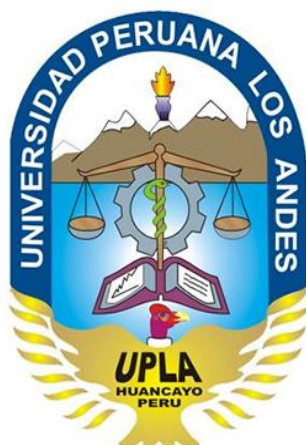


# UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Odontología



## INFORME FINAL DE TESIS

**Título:** “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL  
EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJA DE  
GUAYABA (PSIDIUM GUAJAVA L.) SOBRE  
LACTOBACILOS SPP Y ESTREPTOCOCO  
MUTANS”

**Para Optar:** El Título Profesional de Cirujano Dentista

**Autores:** Bach. Cruz Huapalla, Rosa Adela  
Bach. Flores Gonzales, Gresse Melanie

**Área de Investigación:** Ciencias Básicas

**Línea de Investigación:** Microbiología

**Lugar de Investigación:** Lima

**HUANCAYO –PERÚ**

**2018**

**Asesor:** Mg. CD. Jorge Miguel Calderón Fernández

## DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a Dios, ya que gracias a él he concluido mi carrera.

A mis padres, porque ellos de alguna u otra manera siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí, una mejor persona.

A mi hermano, por su compañía en sus buenos y malos momentos.

A mis abuelitos, que desde el cielo me cuidan siempre, y a mi abuelita María, que siempre está aconsejándome.

**Rosa Cruz**

Esta tesis se la dedico a mi padre Javier, por haberme ayudado a culminar esta etapa universitaria, y aunque no se encuentre físicamente hoy conmigo, sé que donde estoy, él va conmigo de la mano.

A mi madre Rosio y mi hermano Fabrizio, por ser mi apoyo incondicional, guía y fuente de inspiración en mi vida.

De tal forma, también se lo dedico a mis familiares, amigos que siempre me brindaron consejos, palabras de aliento y ser perseverantes en mis sueños, metas e ideales.

**Gresse Flores**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por el gran amor que nos demuestra en cada día de nuestro existir, por ser mi Padre, maestro y amigo, a mis padres César y Rosa, por ser siempre mi apoyo incondicional y mi querido hermano, mi familia y grandes amigos que me apoyaron de una u otra manera.

**Rosa Adela Cruz Huapalla**

A Dios, por siempre bendecirme, a mis padres, porque ellos han dado razón a mi vida, por sus consejos, su paciencia, y su apoyo incondicional, todo lo que soy hoy en día es gracias a ellos y a mi hermano, a mi familia y a las personas que estuvieron conmigo durante todo este largo camino.

**Gresse Melanie Flores Gonzales**

A nuestro asesor de tesis, **Mg. C.D. JORGE MIGUEL CALDERÓN FERNÁNDEZ**, por apoyarnos en este proyecto necesario para nuestro crecimiento personal, día a día ayudando al desarrollo y realización de la tesis. A la institución que permitió el desarrollo de la tesis.

**Atte. Los Autores**

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
Dedicatoria	iii
Agradecimiento	iv
Índice	v
Índice de tabla y gráfico	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
Términos claves usados en la Investigación	ix
<b>CAPITULO I: INTRODUCCION</b>	
1.1. Planteamiento del Problema	1
1.2. Formulación del Problema	2
1.3. Justificación	3
1.3.1. Justificación Teórica o Científica	3
1.3.2. Justificación Social o Práctica	3
1.3.3. Justificación Metodológica	4
1.4. Objetivos	
1.4.1. Objetivo General	4
1.4.2. Objetivos Específicos	5
1.5. Marco Referencial, Teórico:	5
Marco Referencial	
Marco Teórico	
Definición de términos	

1.6. Hipótesis	23
1.7. Operacionalización de Variables	23
<b>CAPITULO II: MÉTODOLÓGIA</b>	
2.1. Método de Investigación	25
2.2. Tipo de Investigación	25
2.3. Nivel de Investigación	26
2.4. Diseño de la Investigación	26
2.5. Población y muestra	26
2.6. Técnicas y/o instrumentos de recolección de datos	26
2.7. Procedimiento de la Investigación	28
2.8. Técnicas y Análisis de Datos	29
2.9. Aspectos éticos de la Investigación	30
<b>CAPITULO III: RESULTADOS</b>	31
<b>CAPITULO IV: ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS</b>	44
<b>CAPITULO V: CONCLUSIONES</b>	46
<b>CAPITULO VI: RECOMENDACIONES</b>	47
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	48
<b>ANEXOS</b>	51

## ÍNDICE DE TABLAS / GRAFICOS

	<b>Pág.</b>
TABLA N <sup>o</sup> 1: Descripción de la medida de halos de inhibición de cada placa con cepa de <i>Streptococo mutans</i> y la <i>Lactobacilo spp</i> ante el extracto alcohólico de hoja de guayaba al 100%.	32
TABLA N <sup>o</sup> 2: Análisis descriptivo del <i>Mutans</i> a las 24 horas.	33
TABLA N <sup>o</sup> 3: Análisis descriptivo del <i>Mutans</i> a las 48 horas.	34
TABLA N <sup>o</sup> 4: Análisis descriptivo del <i>Lactobacilo</i> a las 24 horas.	35
TABLA N <sup>o</sup> 5: Análisis descriptivo del <i>Lactobacilo</i> a las 48 horas.	36
TABLA N <sup>o</sup> 6: Prueba de normalidad de los datos.	37
TABLA N <sup>o</sup> 7: Resumen de prueba de hipótesis 1.	39
TABLA N <sup>o</sup> 8: Resumen de prueba de hipótesis 2.	41
TABLA N <sup>o</sup> 9: Resumen de prueba de hipótesis 3.	42

GRAFICO N° 1: Diagrama de cajas del Mutans a las 24 horas.	33
GRAFICO N° 2: Diagrama de cajas del Mutans a las 48 horas.	34
GRAFICO N° 3: Diagrama de cajas de Lactobacilo a las 24 horas.	35
GRAFICO N° 4: Diagrama de cajas del Lactobacilo a las 48 horas.	36



## RESUMEN

**Objetivo:** El presente estudio de tipo experimental es de determinar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hojas guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% de concentración sobre *Streptococo Mutans* y *Lactobacilos spp* a las 24 y 48 horas de incubación.

**Materiales y métodos:** La muestra está conformada por 21 socavados en Placa Petri con cepas de *Streptococo Mutans* y 21 socavados en Placa Petri de cepas de *Lactobacilos spp*, para este procedimiento se utilizó el Agar Mueller Hinton donde se realizó la siembra por diseminación en placa con hisopo estéril, después se procedió a realizar el socavado y en cada uno se colocó 20 ul. Del extracto alcohólico de la hoja de guayaba al 100% de concentración con una micro pipeta, hasta quedar al mismo nivel que el agar. Las placas se incubaron a 37 °C en un tiempo de 24 horas donde se realizó la primera lectura y a las 48 horas la segunda lectura donde se anotó en la ficha de recolección de datos. Para poder hacer el análisis de los resultados se utilizó prueba estadística para analizar la relación de las variables, ya sea paramétrica o no paramétrica. Según la prueba de normalidad realizada a través del paquete estadístico SPSS 21.

**Resultado:** Después de 24 horas de incubación se observó los siguientes resultado 15.14 mm para *estreptococo mutans* y 13.66 mm para *lactobacilo spp*. a una concentración del 100%. A las 48 horas no mostraron incremento de halo de inhibición, por lo cual no presentaron diferencias significativas.

**Conclusión:** Las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% de concentración presentan actividad antibacteriana mayor en el *estreptococo mutans* en comparación con el *lactobacilo spp*.

**Palabras Claves:** *Streptococo mutans*, *lactobacilo*, guayaba, antibacteriana.

## **ABSTRACT**

**Objective:** of this experimental study is to determine the antibacterial activity of the alcoholic extract of guava leaves (*Psidium guajava* L.) at 100% concentration on *Streptococcus Mutans* and *Lactobacillus* spp 24 and 48 hours of incubation.

**Materials and methods:** The sample consisted of 21 undercuts in Petri dish with *Streptococcus Mutans* strains and 21 undermined in Petri dish of strains of *Lactobacillus* spp, for this procedure the Mueller Hinton Agar was used where the planting was done by plaque dissemination with sterile swab after which the undercut was performed and 20 ul were placed in each one. From the alcoholic extract of guava leaf to 100% concentration with a micro pipette, until it is at the same level as the agar. The plates were incubated at 37 ° C in a time of 24 hours where the first reading was made and at 48 hours the second reading where it was recorded in the data collection form. In order to analyze the results, a statistical test was used to analyze the relationship of the variables, either parametric or non-parametric. According to the normality test carried out through the statistical package SPSS 21

**Result:** after 24 hours of incubation the following result was observed 15.14 mm for *streptococcus mutans* and 13.66 mm for *lactobacillus* spp. At a 100% concentration. At 48 hours they showed no increase in inhibition halo. Which did not show significant differences.

**Conclusion:** Guava leaves (*Psidium guajava* L.) at 100% concentration show greater antibacterial activity in *streptococcus mutans* compared to *Lactobacillus* spp

**Key words:** *Streptococcus mutans*, *lactobacillus*, guava, antibacterial.

## **Definición de Términos:**

- Principios activos: Son sustancias que se encuentran en las distintas partes u órganos de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal.(32)
- Psidium guajava: Planta cuyo fruto es de forma ovalada, del tamaño de una pera mediana, de varios colores, y más o menos dulce, con la carne llena de unos granillos o semillas pequeñas.(32)
- Extracto: Producto sólido o espeso obtenido por evaporación de un zumo o de una disolución de sustancias vegetales o animales.(32)
- Antibacteriano: Capacidad de matar o destruir o inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena. (32)
- U.F.C: Es el número mínimo de células separables sobre la superficie, o dentro, de un medio de agar semi-sólido que da lugar al desarrollo de una colonia. (32)
- Bacilo: Bacteria de forma cilíndrica (bastón).(32)
- Bacterias: Organismos unicelulares procarióticos.(32)
- Infección: Colonización y multiplicación de agentes patógenos en un organismo.(32)
- In vitro: Métodos experimentales realizados en el laboratorio.(32)
- Inocular: Introducir en un organismo una sustancia que contiene los gérmenes de una enfermedad.(32)
- Inhibición: Acción y efecto de inhibir o inhibirse.(32)
- Bacteroides: Es un género de bacterias Gram-negativas con forma de bacilo.(32)

- Cepa: Población de células de una sola especie descendientes de una única célula.(32)
- Agar: Polisacárido complejo extraído de ciertas algas marinas.(32,33)
- Bacteriostático: Que impide la proliferación de bacterias.(32,33)
- Bactericida: Que destruye las bacterias.(32,33)
- Patógeno oportunista - Organismo que, en circunstancias habituales, no causa daño, pero que en ciertas circunstancias produce enfermedad.(32,33)
- Anaerobio facultativo - Organismo que no requiere de O<sub>2</sub>, pero puede crecer en condiciones micro aeróbicas o anaeróbicas.(32,33)

## **CAPITULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

#### **1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

La cavidad oral está compuesta de muchas superficies, cada una de ellas recubierta por una gran cantidad de bacterias, hongos y otros organismos. Algunas de estos organismos han sido implicadas en enfermedades orales como la caries y la periodontitis, úlceras orales e infecciones micóticas que están entre las infecciones más comunes en los seres humanos.

Las plantas medicinales no se utilizaron en este siglo por primera vez, sino desde los tiempos ancestrales, con el fin de curar. Siendo muy importantes las plantas y su uso para diversas afecciones y atenuar enfermedades y así mejorar la calidad de vida.

En la actualidad se conocen diversos usos de plantas que tienen efecto antimicrobiano, una de ellas es la guayaba, empezando por sus beneficios a nivel gastronómico como también para prevenir enfermedades del corazón. La guayaba

(*Psidium guajava* L.) es una fruta muy apreciada por sus valores nutritivos y su alto contenido en diversas vitaminas. Es antiescorbútica por su alto contenido en vitamina C. En forma natural tiene muchas propiedades nutritivas y preventivas de enfermedades como la anemia.

La alta presencia de taninos, fenoles y flavonoides le confieren propiedades antidiarreicas además, actividad farmacológica demostrada como antibacteriano, anti VIH, antioxidante, antiespasmódica, antiinflamatorio, anti anémica, hemostática y sedante.

Con el presente estudio, se busca verificar el efecto antimicrobiano de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% en bacterias como el lactobacilo ssp y estreptococo mutans.

### **1.3 FORMULACION DEL PROBLEMA**

#### **1.3.1 PROBLEMA PRINCIPAL**

¿Cuál será la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% sobre Lactobacilos spp y Estreptococo Mutans?

#### **1.3.2 PROBLEMA ESPECÍFICO**

- ¿Cuál será la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% sobre Lactobacilo ssp?
- ¿Cuál será la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% sobre Estreptococo Mutans?

## **1.3.- JUSTIFICACION**

### **1.3.1 JUSTIFICACION TEORICA O CIENTIFICA.-**

Las especies vegetales son fuente importante de nuevos fármacos, los que tienen una creciente demanda en compuestos antimicrobianos debido a la resistencia a los antibióticos, lo que constituye una amenaza en la población. Las plantas medicinales son recursos o alternativas cuyas propiedades son utilizadas para tratar diferentes afecciones y algunas plantas tienen diferentes propiedades y formas de uso.

Existen investigaciones precedentes con plantas medicinales que han demostrado que tienen propiedades farmacológicas debido a sus principios activos que poseen éstas, y que pueden ser utilizados para el control de microorganismos causantes de enfermedades en la cavidad oral.

### **1.3.2 JUSTIFICACION SOCIAL O PRÁCTICA**

El presente estudio es importante porque contribuirá a una alternativa de tratamiento y prevención de enfermedades bucales con sustancias de origen natural vegetal, a precio cómodo con alta disponibilidad en nuestro país y paralelamente aportar así al desarrollo de la industria farmacéutica. Con diferente presentación en el mercado local que contengan los principios activos de las plantas para tratar diferentes enfermedades que se puedan presentar en la cavidad bucal.

Esta investigación nos permitirá demostrar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) sobre *Lactobacilo spp* y *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas de incubación

### **1.3.3 JUSTIFICACION METODOLOGICA**

Esta investigación posee un carácter eminentemente experimental in vitro, para recolectar el resultado, según el objetivo de la investigación; se elaboró el instrumento de recolección de datos para cada una de las muestras donde fueron anotados los resultados, este instrumento fue creado y validado por especialistas, también tomando modelo de otras investigaciones.

Con nuestra investigación ayudaríamos a que nuestro instrumento tenga validez y confiabilidad, así mismo podría ser utilizado en otros trabajos de investigación de carácter experimental microbiológico que puedan beneficiar a la ciencia en el área de la ciencia médica odontológica.

### **1.4.- OBJETIVOS:**

#### **1.4.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto de hojas guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% sobre *Lactobacilos* y *Estreptococo Mutans* a las 24 y 48 horas de incubación.

#### **1.4.2 OBJETIVO ESPECIFICOS**

- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% sobre *Estreptococo Mutans* a las 24 horas de incubación.
- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% sobre *Estreptococo Mutans* a las 48 horas de incubación.
- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% sobre *Lactobacilo spp* a las 24 horas de incubación.



- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% sobre *Lactobacilo* spp. a las 48 horas de incubación.
- Contrastar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% Sobre *Estreptococo Mutans* a las 24 y 48 horas de incubación.
- Contrastar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% Sobre *Lactobacilo* spp a las 24 y 48 horas de incubación.

## **1.5. MARCO REFERENCIAL, TEORICO**

### **MARCO REFERENCIAL**

#### **ANTECEDENTES**

**Samaniego V., Jacquett N. (2012)** Realizaron una revisión crítica de la eficacia antimicrobiana del extracto *Psidium guajava* L., los efectos de hoja de guayaba extraídos por medio de disolvente de agua, etanol, metanol y diferentes concentraciones de disolventes hidroetanólico en compuestos fenólicos y flavonoides y sus propiedades han sido investigados. La capacidad antibacteriana se evaluó sobre diferentes cepas bacterianas. Los resultados demostraron que la capacidad antibacteriana de los extractos de hoja de guayaba tienen efectividad tanto en bacterias gram positivas como gram negativas y alta efectividad en hongos. Otras capacidades fueron demostradas como antidiarreico, antioxidantes y antiinflamatorias. Los extractos alcohólicos y acuosos de hoja de *Psidium guajava* L. mostraron igual actividad antibacteriana en comparación con otros trabajos que

concluyó que el agua como disolvente de extracción tenía una inhibición mayor que el metanol, ya que es más polar y se absorben más compuestos bioactivos (1)

**Pineda C. (2013)** Probó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) contra *Salmonella* entérica (*S. Typhimurium* en cobayos, tanto in vitro, como in vivo. El extracto por reflujo probó ser más activo (19 mm) que el extracto por maceración (16,7 mm) mediante el método de difusión en fosas en agar. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto por reflujo fue 1,56 mg mL<sup>-1</sup>, mientras que la del extracto por maceración fue 2,60 mg mL<sup>-1</sup>. Por otro lado, el tratamiento alternativo de la salmonelosis en cobayos, fue más efectivo con la concentración de 200 mg mL<sup>-1</sup> de extracto por reflujo, el cual produjo la curación clínica del total de animales del grupo experimental, al tercer día de tratamiento, sin haber mostrado efectos tóxicos aparentes. Palabras clave: Salmonelosis en cobayos; medicina etnoveterinaria; extracto de hojas de guayabo. (2)

**Cano L. (2013)** Evaluó el efecto del aceite esencial (AE) y sus componentes mayoritarios (cineol, (R), limoneno, (S), limoneno y  $\beta$ -cariofileno) presentes en las hojas de la especie vegetal *Psidium guajava* L. sobre las contracciones espontáneas de íleo aislado de cobayo y su actividad antimicrobiana en bacterias patógenas que afectan el tracto gastrointestinal. El efecto antimicrobiano del AE de *P. guajava* L. y de sus componentes mayoritarios se determinó por el método de micro dilución con el indicador azul alamar en cepas de *Salmonella typhi* (ATCC 6539), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25932), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) y *Listeria monocytogenes* (ATCC 244). El efecto farmacológico se evaluó empleando el ensayo de íleo aislado de cobayo. No se detectó un efecto antimicrobiano del AE y de sus componentes mayoritarios en las cepas de *S. typhi* (ATCC 6539), *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25932) y *P. aeruginosa* (ATCC

9027). No obstante, el AE y el  $\beta$ -cariofileno inhibieron el desarrollo de *L. monocytogenes* (ATCC 244) a una concentración mínima inhibitoria de 50g/ml y de 3.13g/ml, respectivamente. Los resultados de las evaluaciones farmacológicas mostraron que el AE, el S-limoneno, el R-limoneno y el cineol inducen un efecto contráctil sobre las contracciones espontáneas del íleon aislado de cobayo de manera dosis-dependiente, en donde la concentración efectiva media (CE50) para cada uno de ellos fue de 87.76g/ml, 455.2g/ml, 38.3g/ml y 76.3g/ml, respectivamente. Por otra parte, el AE y el cineol disminuyeron el tono muscular y la amplitud en las contracciones espontáneas de íleon aislado de cobayo antes de observarse el efecto contráctil, en tanto que el S-limoneno redujo ambos parámetros después de que se presentó este efecto. El  $\beta$ -cariofileno indujo un efecto inhibitorio sobre las contracciones espontáneas del íleon aislado de cobayo dependiente de la concentración con una concentración inhibitoria media (CI50) de 1365g/ml y un efecto máximo (Emax) de 81.6 %. Las evaluaciones de la actividad antimicrobiana y farmacológica del aceite esencial y de sus componentes mayoritarios obtenidos a partir de las hojas de *P. guajava* que se muestran en este trabajo, contribuyen a validar el empleo etnomédico de esta especie vegetal para el tratamiento de los denominados desórdenes gastrointestinales. (3)

**Chero D. (2016).** Se determinó el efecto de antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Psidium guajava* y *Medicago sativa* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los ensayos consistieron en 20 concentraciones volumétricas de cada extracto (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20 mg/ml), un control positivo que fue clorhexidina al 0,12% y el control negativo que fue etanol absoluto. Para evaluar el efecto antibacteriano de ambos extractos alcohólicos se utilizó el método de difusión en disco y para determinar la concentración mínima inhibitoria

(CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se utilizó el método de microdilución en caldo. La lectura de los resultados para el método de difusión en disco se hizo midiendo el diámetro de los halos de inhibición y se reportó en milímetros. Se determinó que tanto la CMI como la CMB fue  $< 1$  mg/ml. La mayor inhibición se encontró con el extracto alcohólico de *Psidium guajava* y fue a la concentración de 18 mg/ml obteniéndose un halo superior a los 28 mm. En el caso del extracto alcohólico de *Medicago sativa* la mayor inhibición se obtuvo a la concentración de 9 mg/ml pero dicha inhibición no fue significativa. Se presume que el efecto del extracto pudo deberse a los compuesto fenólicos presentes en la planta cuyos efectos bactericidas están bien descritos. Se concluye que no existe efecto antibacteriano sinérgico entre los extractos alcohólicos de las hojas de *Medicago sativa* y *Psidium guajava* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 cuyos halos de inhibición obtenidos fueron menores al control negativo. (4)

**Rodriguez R. , Lafourcade A. , Pérez L. (2013).** Determinaron el efecto de antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Psidium guajava* y *Medicago sativa* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los ensayos consistieron en 20 concentraciones volumétricas de cada extracto (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20 mg/ml), un control positivo que fue clorhexidina al 0,12% y el control negativo que fue etanol absoluto. Para evaluar el efecto antibacteriano de ambos extractos alcohólicos se utilizó el método de difusión en disco y para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se utilizó el método de micro dilución en caldo. La lectura de los resultados para el método de difusión en disco se hizo midiendo el diámetro de los halos de inhibición y se reportó en milímetros. Se determinó que tanto la CMI como la CMB fue  $< 1$  mg/ml. La mayor inhibición se encontró con el extracto alcohólico de *Psidium guajava* y fue a

la concentración de 18 mg/ml obteniéndose un halo superior a los 28 mm. En el caso del extracto alcohólico de *Medicago sativa* la mayor inhibición se obtuvo a la concentración de 9 mg/ml pero dicha inhibición no fue significativa. Se presume que el efecto del extracto pudo deberse a los compuesto fenólicos presentes en la planta cuyos efectos bactericidas están bien descritos. Se concluye que no existe efecto antibacteriano sinérgico entre los extractos alcohólicos de las hojas de *Medicago sativa* y *Psidium guajava* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 cuyos halos de inhibición obtenidos fueron menores al control negativo. (5)

**Neira A., Ramírez M. (2005).** Evaluaron la actividad antimicrobiana de varios extractos de *Psidium guajava* L y *Psidium guineense* Sw contra las bacterias *Streptococcus mutans* ATCC 31089, aislada de paciente y *Escherichia coli* 011-A8. Los resultados obtenidos indican alta actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos crudos y las fracciones acetato de etilo En conclusión, los extractos crudos de cáscara pintona seca de guayaba y hojas choba poseen actividad antimicrobiana significativa frente a las dos cepas de (*S mutans*). A los polifenoles en general se les ha atribuido la actividad antimicrobiana frente a *S. mutans* por sus propiedades de astringencia (Gupta, 1995) ya que para que se produzca la caries dental se necesita de la adhesión del *S. mutans* al diente en un proceso que puede estar mediado por proteínas de la bacteria y de la saliva; los polifenoles al inhibir este proceso actúan como anticaries (Razak y Rahim, 2003). Los extractos crudos de guaya y choba también presentaron actividad antimicrobiana contra *E. coli* enterotoxigénica O11A8; los extractos de guayaba pintón y verde choba tienen mayor actividad antimicrobiana, incluso que las mismas hojas. La actividad anti diarrieca se atribuye a las quercetinas presentes en corteza (Gupta, 1995) y también la acción puede atribuirse a la inhibición de las enzimas involucradas en el desarrollo de la bacteria. (6)

**Echemendía C., Morón F. (2014).** Establecieron el efecto de la tintura (etanol 70 %) de hojas secas al 20 % en la diarrea aguda simple en adultos.

Métodos: un ensayo clínico longitudinal, con asignación al azar simple y a doble ciegas en 100 pacientes adultos con enfermedad diarreica aguda. Se organizaron 2 grupos: el grupo tratado (10 mL de tintura al 20 %, disuelta en agua, cada 8 h) y el grupo control (tintura al 1 %). Todos podían beber, ad libitum, agua con sales de rehidratación oral. A los pacientes les fueron solicitados, por escrito, el consentimiento, previa explicación detallada. Se midió el tiempo transcurrido entre el comienzo del tratamiento y la curación, comparándolo con la curación espontánea (tintura al 1 %), y se buscaron las posibles reacciones adversas. Resultados: hubo diferencia estadísticamente significativa a favor de la tintura de hoja al 20 %, a las 24, 48 y 72 h, de iniciado el tratamiento y no ocurrieron reacciones adversas. Conclusiones: la tintura al 20 % de hoja de *Psidium guajava* tuvo efecto antidiarreico importante en el ensayo clínico realizado. (7)

**Martínez M., Molina N., Boucourt E. (1997)** Estudiaron la actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 40 % de *Psidium guajava* L., se utilizó una batería mínima de cepas de microorganismo que incluyen *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* como grampositivo, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* como gramnegativo y la levadura *Candida albicans* mediante el método de difusión en agar. Los resultados obtenidos indican una respuesta antibacteriana baja y un ausente efecto antifúngico. (8)

## **MARCO TEÓRICO**

### **Psidium guajava “guayaba”.**

La guayaba es una fruta maravillosa para la salud. Tal vez no sea tan famosa como otras frutas, pero puede proporcionarnos algunos beneficios para la salud muy importantes. Tiene un perfil nutricional muy equilibrado.

La guayaba pertenece a la familia de las Mirtáceas del género de Psidium. La guayaba es muy refrescante y de sabor dulce. A pesar de que se trata de una fruta no tan popular, es una fruta nutritiva rica en bastantes vitaminas y minerales esenciales, y tiene la capacidad de mejorar la salud de manera significativa. Es una fruta de temporada y puede venir en colores diferentes. Dependiendo de la variedad la carne de la guayaba puede ser de color blanco, rosa, roja o naranja. Los beneficios de la guayaba dependerán mucho de sus variedades. (9)

### **Composición química:**

Las hojas de esta planta contienen taninos y fenoles, flavonoides y triterpenos y esteroides, así como de saponinas y compuestos aminados. 7,12 Se ha reportado un aceite esencial y otras sustancias volátiles.13 Contiene, además, ácido guajanoico,  $\beta$ -sitosterol, uvaol, ácido oleanólico y ácido ursólico; ácido 2- $\alpha$ -hidroxiursólico, morin-3-O- $\alpha$ -L-arabopiranosido, hiperina, miricetina-3-O- $\beta$ -D-glucosido, quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucuronopiranosido, 1-O-galoil- $\beta$ -D-glucosa.13 Se ha informado la presencia de ácido ascórbico y de otros flavonoides así como azúcares reductores y alcaloides. 14 Se ha aislado una nueva benzofenona y un flavonol de naturaleza galoil-glicósido, conjuntamente con 5 nuevos quercetin-glicósidos.15 Se ha informado el aislamiento de nuevos flavonoides16 y de 4 nuevos triterpenos. (9)

## **Composición nutricional de la guayaba**

La guayaba es una gran fuente de vitamina C y vitamina A. Además contiene altas cantidades de potasio. Otros nutrientes que se pueden encontrar en la guayaba son:

- Fibra
- Fósforo
- Manganeso
- Calcio
- Hierro
- Cobre
- Ácido fólico
- Vitamina E
- Vitamina B2 (10, 11)

## **Beneficios de la guayaba**

Fruto tropical lleno de vitaminas, la guayaba contiene más de 3 veces los antioxidantes de las naranjas o el limón, y es una de las frutas con mayor poder antioxidante que existen.

- Diabetes: El fruto de la guayaba y sus hojas contienen, al menos, 13 sustancias contra la diabetes. Sus hojas se utilizan en té para tratar la diabetes. Un estudio científico ha demostrado que el zumo natural de guayaba ayuda a tratar la diabetes.
- Enfermedades de corazón: La guayaba es muy saludable para prevenir y tratar enfermedades del corazón. Ayuda a prevenir arritmias cardíacas, y a disminuir la presión arterial, así como para controlar los niveles de colesterol.
- Antiséptico: Las hojas de guayabo se mastican como antibiótico natural contra las bacterias causantes del mal aliento. (12,13)

La guayaba de carne rosa, roja o naranja, son una importante fuente de licopeno. El licopeno es un fitoquímico de la familia de los carotenoides extremadamente útil en la prevención del cáncer y las enfermedades del corazón.



Aparte de esto, la investigación ha puesto de manifiesto datos muy interesantes acerca de otras propiedades de la guayaba: En primer lugar, contiene más potasio que las manzanas y en segundo lugar la cantidad de vitamina C en la guayaba es superior al de las naranjas. Estos hechos por sí solos indican lo nutritiva que es esta fruta.

Beneficios para la salud de Guayaba. (14,15)

### **Pérdida de Peso**

Teniendo un alto contenido de fibra alimentaria, la guayaba ayuda en el proceso de pérdida de peso ya que nos mantiene más saciados. La fibra es también muy buena para el metabolismo y el metabolismo influye en la pérdida de peso. Además, la guayaba también proporciona nutrientes esenciales como proteínas y vitaminas en el cuerpo que se necesita para la producción de energía y otras funciones. (16,17)

### **La buena digestión**

La fibra ayuda con la digestión y mantiene el estómago sano. Las semillas de guayaba son fáciles de digerir y actúan como laxantes. La guayaba ayuda a regular el movimiento intestinal y limpia los intestinos correctamente. La vitamina C y potasio desempeñan un papel importante para mantener la salud del tracto digestivo. (18,19)

### **Lucha contra el Cáncer**

Las propiedades antioxidantes de la guayaba juegan un papel importante en la prevención del cáncer. Esto es gracias a la vitamina C y al licopeno.

### **Salud del Corazón**

El licopeno es también un factor importante para la promoción de la salud del corazón. Al evitar el daño de los radicales libres de las LDL, ayuda a reducir las enfermedades del corazón. La vitamina C es otro fuerte antioxidante que ayuda a proteger el corazón

de sustancias nocivas y mantener el corazón sano. El potasio es un nutriente importante para controlar los niveles de presión arterial. En general la guayaba es una fruta muy buena para el corazón. (20, 21,23)

### **Salud de la Piel**

Los nutrientes en la guayaba promueven la salud de la piel gracias a la vitamina C, vitamina A, y el manganeso. Estos nutrientes previenen el envejecimiento y dan a la piel un brillo saludable.

Otros beneficios de la guayaba incluyen su capacidad para mejorar la salud de los nervios y el cerebro. También se considera como un alimento bueno para la diabetes. Sin embargo, el consumo de guayaba con cáscara puede aumentar los niveles de azúcar en sangre. Por lo tanto, los diabéticos deben comer guayaba después de pelarla. La guayaba es buen remedio para el frío y también un buen fruto para la salud de los ojos. (24,25, 26)

## **ESTREPTOCOCO MUTANS**

### **Morfología y características en cultivo**

*Streptococcus mutans* es un coco Gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativo, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente, 24 horas. Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. Normalmente no desamina la arginina para producir amoníaco. Usualmente no producen ni hemólisis ni decoloración en agar sangre, es principalmente alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque se han reportado unas pocas cepas hemolíticas. *Streptococcus mutans* se ha sub clasificado en varios tipos con base en las propiedades inmunológicas, biológicas y genéticas: los serotipos de *Streptococcus mutans* son c, e, f y k. El hábitat natural de *S. mutans* es la boca humana. En cavidad

oral, las colonias se adhieren muy cerca de la superficie del diente e igualmente se puede recuperar en lesiones cariosas. Puede aislarse frecuentemente de heces en humanos y ratas. Aunque *S. mutans* no se distribuye ampliamente en animales salvajes, se ha aislado. (27)

### **Medios de cultivo**

En general hay muchas dificultades técnicas para obtener muestras representativas de diferentes sitios bucales y para aislar, cultivar y contar los microorganismos. No existe un solo método de cultivo para examinar la variable y compleja placa dental que satisfaga todas las condiciones necesarias. En algunos casos se requieren procedimientos estrictamente anaeróbicos. Afortunadamente, muchas de las especies de estreptococos encontrados en boca pueden aislarse de varios sitios usando medios selectivos como el Agar Mitis Salivarius (MS). Aunque el Agar MS fue originalmente desarrollado para aislar estreptococos fecales, su uso ha predominado sobre otros medios de cultivo para el aislamiento de estreptococos bucales, incluyendo *Streptococcus mutans*. En el agar MS, muchos estreptococos bucales muestran una morfología característica de las colonias (blanquecinas, de bordes definidos, colonias firmes muy adherentes al medio de cultivo) lo cual permite su diferenciación inicial. Usualmente, la placa de agar se cultiva en una atmósfera del 95% de nitrógeno y 5% de dióxido de carbono a 37°C por 1 o 2 días seguida de una incubación en aire por 1 o 2 días. Además de la morfología característica de las colonias, los estreptococos bucales pueden diferenciarse por su habilidad para fermentar ciertos azúcares (especialmente manitol y sorbitol) y por adherirse a superficies lisas en presencia de sacarosa. (28)

El cultivo en agar es considerado como el estándar de oro ya que permite realizar recuentos bacterianos para establecer proporciones relativas, mediante métodos

cuantitativos en medios no selectivos. Actualmente hay 5 medios de cultivo diferentes para el aislamiento de *Streptococcus mutans*. Estos son: Agar Mitis salivarius con bacitracina (MSB), Agar Mitis Salivarius con bacitracina y kanamicina (MSKB) Agar glucosa-sacarosa-telurito bacitracina (GSTB) Agar Tripticasa de soya con sacarosa y bacitracina (TYS20B) y Agar tripton extracto de levadura cisteína con sacarosa y bacitracina (TYCSB). El agar MS es el medio más ampliamente usado para aislar *S. mutans* y otras especies bucales de estreptococos. El agar MS ha sido modificado para ser más selectivo en el aislamiento de *S. mutans* adicionando tanto sulfonamida (Agar MC), bacitracina (Agar MSB), polimixina o aun sacarosa (MS40S). Los métodos de recuento de colonias permiten determinar el grado de colonización producida por *Streptococcus mutans* según las edades, siendo de gran utilidad para identificar la población de alto riesgo de caries dentales y su aplicación permitiría desarrollar programas de prevención en salud oral en poblaciones específicas y vulnerables. (29)

### **Lactobacillus**

Los lactobacilos (también *Lactobacillus* o bacterias del ácido láctico) son un género de bacterias Gram positivas anaerobias aerotolerantes, denominadas así debido a que la mayoría de sus miembros convierten la lactosa y algunos monosacáridos en ácido láctico, dando lugar a la fermentación láctica.

Habitualmente son benignas e incluso necesarias, habitan en el cuerpo humano y en el de otros animales; estando presentes, por ejemplo, en el tracto gastrointestinal y en la vagina. Muchas especies son importantes en la descomposición de la materia vegetal. (30)

La producción de ácido láctico hace que su ambiente sea ácido, lo cual inhibe el crecimiento de bacterias patógenas. Algunas especies de *Lactobacillus* se usan industrialmente para la producción de yogur y de otros alimentos fermentados.

Algunas bebidas de yogur contienen *Lactobacillus* como suplemento dietético. Muchos lactobacilos son los únicos seres vivos que no requieren hierro para vivir y tienen una tolerancia extremadamente alta al peróxido de hidrógeno.

Muchos lactobacilos presentan la característica inusual de operar usando un metabolismo homofermentativo (es decir, sólo producen ácido láctico a partir de azúcares) y son aerotolerantes a pesar de la ausencia de cadena respiratoria. Esta aerotolerancia es dependiente del manganeso y ha sido estudiada y explicada en *Lactobacillus plantarum*.

Además, los lactobacilos tienen un rol fundamental una vez que se inicia la caries dental y durante su etapa de desarrollo, y desempeñan importantes funciones en el cuerpo humano como, por ejemplo, la regeneración de la flora intestinal. (31)

#### **Característica del Microorganismo:**

Morfológicamente, algunos bacilos son bastones delgados y largos; otros son algo parecido al colibacilo, pero, al contrario de este, todos son grampositivos. Casi todos son inmóviles, pero se han señalado excepciones. Muchos cultivos muestran una forma diplobacilar característica, a menudo reniforme. Frecuentemente los cultivos viejos muestran considerable pleomorfismo.

Los Lactobacilos, son microaerófilos o anaerobios, pero después de cultivos continuos, algunas cepas pueden desarrollarse en presencia de aire. Sus necesidades nutritivas son complejas, y la mayor parte de las cepas no puede cultivarse en los medios nutritivos ordinarios, a menos que se enriquezcan con glucosa y suero. Las necesidades individuales de aminoácidos varían de dos a quince; en general, se requiere piridoxina, tiamina, riboflavina, biotina, ácido fólico y ácido nicotínico, variando las necesidades en cada caso. Estos requerimientos nutritivos variados tienen aplicación práctica en técnicas de dosificación microbiológica de vitaminas y de

algunos aminoácidos, para los cuales son más sensibles que los métodos químicos disponibles. En concentración adecuada, hay cierta relación definida, incluso lineal, entre la concentración de vitamina en un medio de cultivo adecuado, pero exento de vitamina, y el desarrollo o la cantidad de ácido producidos.

Algunos bacilos forman parte de la flora intestinal normal y pueden predominar en lactantes e individuos con ingestión elevadas de azúcares, especialmente lactosa. Se supuso que la flora intestinal de lactobacilo era preferible a una flora proteolítica de coliformes, ya que tendía a inhibir los trastornos degenerativo aumentando la vitalidad en personas de edad avanzada, y que esa flora podía establecerse consumiendo leches fermentadas o leches búlgaras y acidófilos. De esta manera puede alterarse la composición de la flora intestinal, y también mediante el consumo de cantidades equivalentes de leche azucarada, pero el cambio es pasajero, y no está demostrado que esa flora intestinal por sí misma favorezca la salud.

Aunque se han encontrado raros casos de relación de Lactobacilos con procesos patológicos como endocarditis y enfermedad febril, estas bacterias esencialmente no son patógenas, excepto las raras veces que pueden relacionarse con caries dentales. Son fundamentalmente interesante en la industria de derivados lácteos y de fermentación, donde tienen importancia considerable.

Los Lactobacilos, según los productos de fermentación de azúcar, se dividen en dos grupos. El grupo homofermentativo es el mayor y convierte casi completamente el azúcar fermentado en ácido láctico; el grupo heterofermentativo está constituido por formas que producen cantidades importantes de otros productos de fermentación, incluyendo bióxido de carbono, etanol y ácido acético. (31)

## **Especies Lactobacilos**

**Lactobacillus acidophilus.** Este organismo, cultivado por primera vez por Moro en 1900, a partir de heces de lactante, ha sido aislado del intestino de casi todos los mamíferos, muchos otros vertebrados y algunos invertebrados. Su cantidad aumenta en el intestino cuando aumenta el contenido de carbohidratos en la dieta; pueden ser predominantes cuando se ingiere una dieta láctea. Estos bacilos, bastante gruesos y de longitud variable, se disponen aislados, a pares frecuentemente algo flexionados en la unión, y en empalizadas. Las cadenas largas, las formas filamentosas y las formas en maza no son raras. Los cultivos jóvenes se tiñen uniformemente grampositivos; los cultivos viejos, a menudo muestran coloración listada o bipolar y pueden decolorarse fácilmente. Las colonias, generalmente pequeñas, pueden variar en su forma: de la opaca, redonda y lisa a la aplanada, translúcida e irregular, frecuentemente con aspecto de cristal. Las reacciones de fermentación son variables, pero la mayor parte de cepas producen ácido pero no gas, a partir de glucosa, lactosa, maltosa y sacarosa y coagulan la leche en 48 horas. El bacilo de Döderlein (1892), miembro común de la flora vaginal, que se cree ayuda a las defensas naturales contra la infección por contribuir a la acidez de las secreciones vaginales, parece ser idéntico a *L. Acidophilus*.

**Lactobacillus bifidus.** En relación aparentemente muy estrecha con *Lactobacillus acidophilus* y a menudo difícil de distinguir de él, es un bastón más delgado con extremos algo más ahusados y generalmente bifurcados cuando es recién aislado. Lo obtuvo Tissier de heces de lactantes alimentados de pecho, en 1900. Aunque es común en el intestino de lactantes alimentados al pecho, formando a veces más de 90 por 100 de la flora intestinal total, es menos abundante en niños con alimentación artificial. A veces se encuentra también en las heces de animales adultos, incluyendo

al hombre. Como *Lactobacillus acidophilus*, produce ácido, principalmente láctico, a partir de muchos azúcares, pero también fermenta la insulina. Obtenido de aislamiento primario, es anaerobio, y algunas cepas nunca se desarrollan adecuadamente en condiciones aerobias. El desarrollo aumenta con cistina. En parte debido a sus necesidades aerobias, se ha clasificado con *Bacteroides*. (31)

***Lactobacillus bulgaricus***. Este nombre se asignó a un organismo aislado por Grigoroff, en 1905, de leche búlgara fermentada. Ganó importancia por los trabajos de Metchnikoff, quien, como antes se dijo, creía que la putrefacción intestinal podía reprimirse bebiendo leche fermentada por este microorganismo. Cuando más tarde se demostró que *L. Bulgaricus* no se implantaba en el intestino, se empleó en terapéutica experimental se inclinó a favor de *L. Acidophilus*. Es más difícil de cultivar que este, ligeramente más voluminoso y algo diferente en la fermentación de azúcares; sin embargo, se relacionan estrechamente. Se ha señalado que *L. Bulgaricus* raramente se desarrolla a 15 °C, muere en cultivos repetidos en caldo de lactosa – peptona – levadura, es incapaz de desarrollarse en medio que contengan 2.5 por 100 de cloruro de sodio y no crece en caldo a pH de 7.8, en tanto que *L. acidophilus* puede crecer en todas estas condiciones. El bacilo de Boas – Oppler, visto por primera vez en 1895 en jugo gástrico de pacientes con carcinoma gástrico, es miembro de este grupo, semejante, sino idéntico, a *L. Bulgaricus*. (31)



## Definición de Términos:

- Principios activos: Son sustancias que se encuentran en las distintas partes u órganos de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal.(32)
- Psidium guajava: Planta cuyo fruto es de forma ovalada, del tamaño de una pera mediana, de varios colores, y más o menos dulce, con la carne llena de unos granillos o semillas pequeñas.(32)
- Extracto: Producto sólido o espeso obtenido por evaporación de un zumo o de una disolución de sustancias vegetales o animales.(32)
- Antibacteriano: Capacidad de matar o destruir o inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena. (32)
- U.F.C: Es el número mínimo de células separables sobre la superficie, o dentro, de un medio de agar semi-sólido que da lugar al desarrollo de una colonia. (32)
- Bacilo: Bacteria de forma cilíndrica (bastón).(32)
- Bacterias: Organismos unicelulares procarióticos.(32)
- Infección: Colonización y multiplicación de agentes patógenos en un organismo.(32)
- In vitro: Métodos experimentales realizados en el laboratorio.(32)
- Inocular: Introducir en un organismo una sustancia que contiene los gérmenes de una enfermedad.(32)
- Inhibición: Acción y efecto de inhibir o inhibirse.(32)
- Bacteroides: Es un género de bacterias Gram-negativas con forma de bacilo.(32)
- Cepa: Población de células de una sola especie descendientes de una única célula.(32)

- Agar: Polisacárido complejo extraído de ciertas algas marinas.(32,33)
- Bacteriostático: Que impide la proliferación de bacterias.(32,33)
- Bactericida: Que destruye las bacterias.(32,33)
- Patógeno oportunista - Organismo que, en circunstancias habituales, no causa daño, pero que en ciertas circunstancias produce enfermedad.(32,33)
- Anaerobio facultativo - Organismo que no requiere de O<sub>2</sub>, pero puede crecer en condiciones micro aeróbicas o anaeróbicas.(32,33)

### **1.6.- Hipótesis General**

El extracto alcohólico de la hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) tiene propiedades antibacterianas, por lo tanto inhibe el crecimiento de *Streptococo Mutans* y *Lactobacilo Spp.*

### **Hipótesis Nula**

El extracto alcohólico de la hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) no tiene propiedades antibacterianas, por lo tanto no inhibe el crecimiento de *Streptococo Mutans* y *Lactobacilo Spp.*

### **Hipótesis específicas**

- El extracto alcohólico de la hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) tiene propiedades antibacterianas, por lo tanto inhibe el crecimiento de *Streptococo Mutans*.

-El extracto alcohólico de la hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) no tiene propiedades antibacterianas, por lo tanto no inhibe el crecimiento de *Streptococo Mutans*..

- El extracto alcohólico de la hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) tiene propiedades antibacterianas, por lo tanto inhibe el crecimiento de *Lactobacilo* Spp.

- El extracto alcohólico de la hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) no tiene propiedades antibacterianas, por lo tanto no inhibe el crecimiento de *Lactobacilo* Spp.

## **1.7. Operacionalización de Variables**

### **Variables Independientes**

Extracto alcohólico de hoja de Guayaba (*Psidium guajava* L).

### **Variable Dependiente:**

Actividad antibacteriana

### **INDICADOR**

Halo de inhibición

## **CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION**

### **Criterios de inclusión.**

- Se incluyó las placas Petri inoculadas con estreptococo mutans que no se contaminaron después de las 24 y 48 horas de incubación.
- Se incluyó las placas Petri inoculadas con lactobacilos que no se contaminaron después de las 24 y 48 horas de incubación.

### **Criterio de exclusión**

- Se excluyó las placas Petri inoculadas con estreptococo mutans que se contaminaron después de las 24 y 48 horas de incubación.
- Se excluyó las placas Petri inoculadas con lactobacilos que se contaminaron después de las 24 y 48 horas de incubación.

## Operacionalización de Variables

VARIABLES	TIPO	ESCALA	INDICADOR
<b>V.I.</b> Extracto alcohólico de hoja de Guayaba ( <i>Psidium guajava</i> L).	Cuantitativa	Ordinal	100%
<b>V.D.</b> Actividad antibacteriana	Cualitativa	Razón	Halo de Inhibición (mm)

## CAPITULO II. METODOLOGIA

### 2.1. Método de investigación:

#### **Método experimental**

Es un tipo de investigación donde se utiliza experimentos y los principios encontrados en el método científico. Donde los experimentos pueden ser llevados a cabo en el laboratorio.

### 2.2 Tipo de investigación:

Según la naturaleza es de tipo:

**Experimental.** Porque una variable (independiente) es controlada por el investigador para ver qué efectos produce en los resultados (variables dependientes).

**Longitudinal.** Porque se recolectan los datos más de una sola vez antes y después.

**Prospectivo.** Porque los datos de estudios son recogidos a medida que van sucediendo.

**Comparativo.** Porque los resultados obtenidos se contrastaron en dos tiempos.

**2.3. Nivel de la investigación:** Investigación de tipo experimental.

**2.4. Diseño de investigación:**

Investigación de tipo experimental de tipo cuantitativa donde se manipulará una variable no comprobada con el fin de escribir de qué modo y por qué causa se produce el acontecimiento.

## **2.5. Población y muestra**

### **Población**

Está conformada por cepas de Lactobacilos spp, y de Estreptococo Mutans ATCC 25175.

### **Muestra**

La muestra está conformada por 21 placas Petri con cepas de Lactobacilos Spp y 21 placas Petri de cepas de Estreptococo Mutans ATCC 25175., liofilizados ya identificadas obtenidas del laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional Federico Villarreal donde se realizó la investigación.

## **2.6. Técnica e instrumento de recolección de datos**

Se utilizó la ficha para recolectar los datos y así poder colocar las mediciones de los halos de inhibición con regla milimetrada que ha producido el extracto de hoja de guayaba después de la incubación ante el Estreptococo Mutans y Lactobacilo spp a las 24 y 48horas respectivamente. (34)

Extracto de hoja de guayaba		Medición de los halos de inhibición en mm.	
		24h Incubación	48h Incubación
Número de repeticiones de socavados #20	1 socavado		
	2 socavado		
	3 socavado		
	4 socavado		
	5		
	6		
	.		
	.		
	.		

Fuente: Rosa

Elena

Bautista Manrique (34)

## **2.7. Procedimiento de la investigación.**

### **Obtención del extracto alcohólico de guayaba (Psidium guajava L.)**

La metodología de extracción del extracto consistió en el siguiente procedimiento. Se recolectó 250 g de hojas de guayaba (Psidium guajava L.) y fueron lavadas con agua destilada y desinfectadas con alcohol de 70°C luego se procedió al secado de las hojas por 4 horas en estufa a 40 °C. Después del tiempo de secado se procedió a triturado manual con un mortero, al término de este procedimiento luego se volvió a pesar para colocar la cantidad suficiente para la maceración, se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar 250g de material triturado por cada 1000 ml, de etanol al 90 °C dejándose macerar por una semana, agitándolo todos los días.

El producto se filtró 3 veces, primero con papel filtro y se obtuvo el extracto al 100% de concentración lo que se utilizarán en los procedimientos.

### **Reactivación de la cepa**

Lactobacilo spp y Streptococo Mutans ATCC 25175, dicha cepa se reactivó en placas Petri con agar Rugosa, Agar mitisalivarius. Las placas con S. mutans y Lactobacilos se incubaron a 37 °C en Jarra Gaspak (para generar las condiciones de anaerobiosis) en una estufa en un tiempo de 48 horas. Después de este tiempo se conservó la cepas a una temperatura -20°C

### **Preparación de medios de cultivo**

Los medios de cultivo a utilizar fueron, Agar Mueller Hinton para realizar el procedimiento de socavado en agar con una técnica de siembra de diseminación con hisopo estéril.



## **Preparación del Inóculo**

Para estandarizar la densidad del inóculo se usará una suspensión de sulfato de bario (0,5 en la escala de Mac Farland) como estándar de turbidez. Se tomarán 5 colonias aisladas del agar mitis salivarius y agar rogosa y se procedió a sembrar el inóculo en caldo tripticasa de soya por comparación visual hasta la turbidez ( $1 \times 10^6$  -  $5 \times 10^6$  UFC/ml) equivalente a la escala de Mac Farland. Luego se procederá a tomar 100 ul. de cada suspensión bacteriana y sembrar en placas Petri conteniendo agar Mueller Hinton mediante hisopado uniforme o siembra por diseminación.

## **Inoculación del principio activo**

En cada pozo se colocará 20 ul. Aproximadamente del extracto alcohólico al 100% a comprobar o mediante una micro pipeta, hasta quedar al mismo nivel que el agar. Las placas se incubarán a 37°C, después de las cuales se realizará la medición de los halos de inhibición con un calibrador vernier o regla milimetrada o pie de rey a las 24, 48 horas respectivamente.

## **2.8.- Técnica y análisis de datos**

Para el análisis se utilizará el programa SPSS 21. El cual presenta datos descriptivos de las variables de estudio. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk debido al tamaño de la muestra es menor a 50, esto se realizó para saber qué tipo de prueba estadística se utilizó para analizar la relación de las variables, ya sea paramétrica o no paramétrica. Para la contrastación de las hipótesis se utilizó la prueba no paramétrica Signo rango de Wilcoxon y de Friedman con un nivel de significancia = 0.05.

## **2.9.- Aspectos éticos de la investigación.-**

Para que la investigación se sustente en los principios de la ética, se necesitó la aprobación del proyecto por la universidad para la ejecución, tomándose en cuenta todos los aspectos establecidos al respecto y la autorización del profesor encargado del laboratorio de microbiología de la universidad Federico Villarreal donde se realizará todos los procedimientos hasta alcanzar los objetivos del proyecto.

**CAPITULO III**  
**RESULTADO**

**Tabla N° 1**

**Descripción de la medida de halos de inhibición de cada placa con cepa de *Streptococo mutans* y la *Lactobacilo spp* ante el extracto alcohólico de hoja de guayaba al 100%.**

Extracto al 100%	Halo de Inhibición E. mutans		Halo de Inhibición Lactobacilo	
	N° de socavados	Tiempo 24horas	Tiempo 48 horas	Tiempo 24 horas
1	15	15	12	12
2	20	20	12	12
3	16	16	12	12
4	12	12	13	14
5	12	12	12	12
6	17	17	13	13
7	18	18	13	13
8	14	14	16	16
9	16	16	16	16
10	15	15	16	15
11	16	16	16	16
12	16	16	12	12
13	16	16	13	13
14	16	16	13	13
15	15	15	12	12
16	15	15	20	20
17	15	15	12	12
18	15	15	14	14
19	13	13	13	13
20	13	13	14	14
21	13	13	13	13

**Tabla N°2**

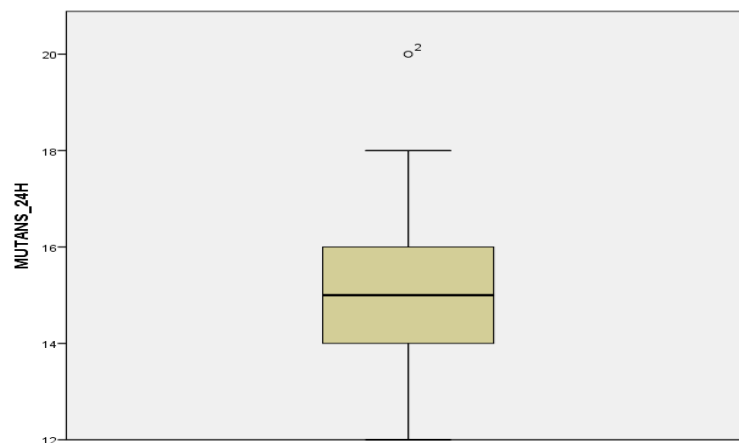
**ANALISIS DESCRIPTIVO DEL MUTANS A LAS 24H**

N	Válidos	21
	Perdidos	0
Media		15.14
Mediana		15.00
Moda		15 <sup>a</sup>
Varianza		3.729
Rango		8
Mínimo		12
Máximo		20
Percentiles	25	13.50
	50	15.00
	75	16.00

a. Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.

De las 21 muestras obtenidas a las 24 horas de incubación observamos que presenta una media de 15.14 mm, con un valor mínimo de 12 mm y máximo de 20 mm. Varianza 3.729 y mediana es 15

**Grafico N° 1**



**Tabla N°3**

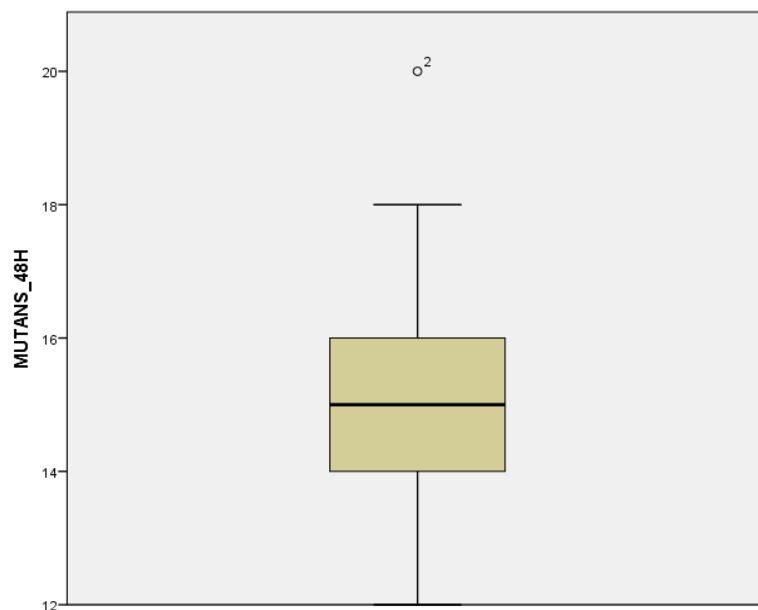
**ANALISIS DESCRIPTIVO DEL MUTANS A LAS 48H**

N	Válidos	21
	Perdidos	0
Media		15.14
Mediana		15.00
Moda		15 <sup>a</sup>
Varianza		3.729
Rango		8
Mínimo		12
Máximo		20
Percentiles	25	13.50
	50	15.00
	75	16.00

a. Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.

De las 21 muestras obtenidas a las 48 hora de incubación observamos que la media es 15.14 mm, con un valor mínimo de 12 mm y máximo de 20 mm. Varianza 3.729 y mediana es 15.

**Grafico N° 2**



**Tabla N° 4**

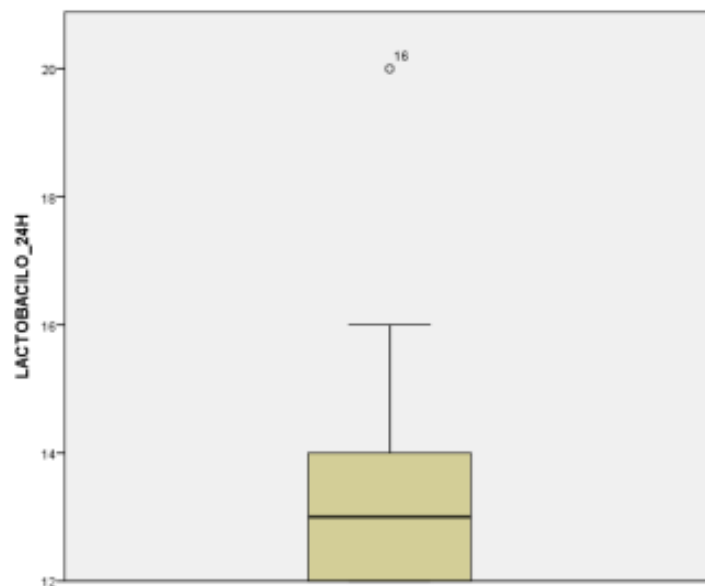
**ANALISIS DESCRIPTIVO DEL LACTOBACILO A LAS 24H**

N	Válidos	21
	Perdidos	0
Media		13.67
Mediana		13.00
Moda		12 <sup>a</sup>
Varianza		4.233
Rango		8
Mínimo		12
Máximo		20
Percentiles	25	12.00
	50	13.00
	75	15.00

a. Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.

De las 21 muestras obtenidas a las 24 horas de incubación observamos que tiene una media de 13.67 mm, con un valor mínimo de 12 mm y máximo de 20 mm. Varianza 4.233 y mediana es 13

**Grafico N° 3**



**Tabla N° 5**

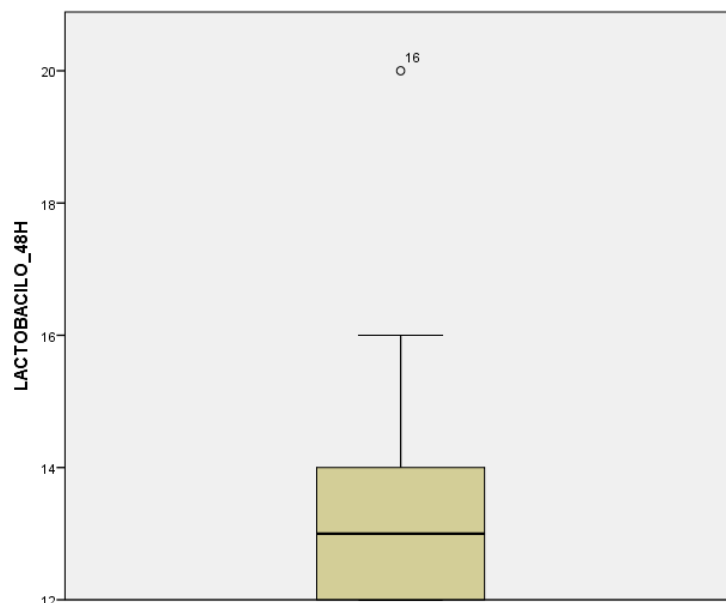
**ANALISIS DESCRIPTIVO DEL LACTOBACILO A LAS 48H**

N	Válidos	21
	Perdidos	0
Media		13.67
Mediana		13.00
Moda		12 <sup>a</sup>
Varianza		4.233
Rango		8
Mínimo		12
Máximo		20
Percentiles	25	12.00
	50	13.00
	75	15.00

a. Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.

De las 21 muestras obtenidas a las 48 horas de incubación se observa que tiene una media de 13.67 mm, de un valor mínimo de 12 mm y máximo de 20 mm. Varianza 4.233 y mediana es 13

**Grafico N° 4**



**Estadística**

**Inferencial**



## Prueba de normalidad

Se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk debido a que el tamaño de muestra es menor a 50, esto se realizó para saber qué tipo de prueba estadística utilizar para analizar la relación de las variables, ya sea paramétrica o no paramétrica.

Según la prueba de normalidad realizada a través del paquete estadístico SPSS 21 a los datos obtenidos de la investigación se observa que los datos no presentan normalidad en lactobacilos, el valor "p" es menor al valor de significación teórica  $\alpha = 0.05$  y en Mutans es mayor a 0.05, al no haber concordancia de los valores se asumen que no presenta normalidad.

**Tabla N° 6**  
*Prueba de normalidad de los datos*

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.
MUTANS_24H	.933	21	.155
MUTANS_48H	.933	21	.155
LACTOBACILO_24H	.767	21	.000
LACTOBACILO_48H	.767	21	.000

**Fuente: Base de datos de la presente investigación**

Entonces luego de ver los resultados anteriores para la contrastación de las hipótesis se utilizó la prueba no paramétrica Signo rango de Wilcoxon y de Friedman con un nivel de significancia = 0.05.

## Prueba de Hipótesis

### Prueba de Hipótesis general

#### Hipótesis de investigación

Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene propiedad antibacteriana entonces inhibiría el crecimiento de *Streptococo Mutans* y *Lactobacilo Spp*

#### Contrastación de Hipótesis Estadística

**H1:** Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene propiedad antibacteriana entonces inhibe el crecimiento de *Streptococo Mutans* y *Lactobacilo Spp*.

**H0:** Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene propiedad antibacteriana entonces no inhibe el crecimiento de *Streptococo Mutans* y *Lactobacilo Spp*.

El nivel de significación es  $\alpha=0.05$ , que corresponde a un nivel de confiabilidad del 95%.

Función de Prueba: Se realizó por medio de la prueba de Friedman, ya que una de las variables no presentan normalidad en los datos.

Regla de decisión:  $p \geq \alpha \rightarrow$  se acepta la hipótesis nula  $H_0$

$p < \alpha \rightarrow$  se acepta la hipótesis alterna  $H_a$

Tabla N° 7

**Resumen de prueba de hipótesis**

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	Las distribuciones de MUTANS_24H, MUTANS_48H, LACTOBACILO_24H and LACTOBACILO_48H son las mismas.	Análisis de dos vías de Friedman de varianza por rangos de muestras relacionadas	.080	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05

Como se puede observar en la Tabla N° 7 el coeficiente de significancia de Friedman es 0,080\*\* el cual se interpreta que la correlación es no significativa al nivel 0,05 (bilateral) tomando como criterio de aceptación correlaciones con significancia al  $p < 0.05$ , nos indica que Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene en su composición química taninos, fenoles, flavonoides, que le da esa propiedad de ser antibacteriana entonces no inhibiría el crecimiento de *Streptococo Mutans* y *Lactobacilo Spp*.

**Decisión estadística:**

De esta manera la hipótesis general de la investigación es rechazada y se acepta la hipótesis nula.

## **Prueba de Hipótesis específica 1**

### **Hipótesis de investigación**

Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene propiedad antibacteriana entonces inhibiría el crecimiento de *Streptococo Mutans*.

### **Contrastación de Hipótesis Estadística**

**H1:** Si la guayaba (*Psidium guajava*) propiedad antibacteriana entonces inhibiría el crecimiento de *Streptococo Mutans*.

**H<sub>0</sub>:** Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene propiedad antibacteriana entonces no inhibiría el crecimiento de *Streptococo Mutans*

El nivel de significación es  $\alpha=0.05$ , que corresponde a un nivel de confiabilidad del 95%.

Función de Prueba: Se realizó por medio de la prueba de wilcoxon, ya que una de las variables no presentan normalidad en los datos.

Regla de decisión:  $p \geq \alpha \rightarrow$  se acepta la hipótesis nula  $H_0$

$p < \alpha \rightarrow$  se acepta la hipótesis alterna  $H_a$

**Tabla N° 8:**

**Resumen de prueba de hipótesis**

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre MUTANS_24H y MUTANS_48H es igual a 0.	Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo de muestras relacionadas	1.000	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

Como se puede observar en la Tabla 8 el coeficiente de significancia de prueba de wilcoxon es 1.000\*\* el cual se interpreta que la correlación es no significativa al nivel 0,05 (bilateral) tomando como criterio de aceptación correlaciones con significancia al  $p < 0.05$ , nos indica que Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene en su composición química taninos, fenoles, flavonoides, que le da esa propiedad de ser antibacteriana entonces no inhibiría el crecimiento de *Streptococo Mutans*.

**Decisión estadística:**

De esta manera la hipótesis general de la investigación es rechazada y se acepta la hipótesis nula.

## **Prueba de Hipótesis específica 2**

### **Hipótesis de investigación**

Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene propiedad antibacteriana entonces inhibiría el crecimiento de lactobacilo Spp.

### **Contrastación de Hipótesis Estadística**

**H1:** Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene propiedad antibacteriana entonces inhibiría el crecimiento de lactobacilo Spp.

**H<sub>0</sub>:** Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene propiedad antibacteriana entonces no inhibiría el crecimiento de lactobacilo Spp.

El nivel de significación es  $\alpha=0.05$ , que corresponde a un nivel de confiabilidad del 95%.

Función de Prueba: Se realizó por medio de la prueba de wilcoxon, ya que una de las variables no presentan normalidad en los datos.

Regla de decisión:  $p \geq \alpha \rightarrow$  se acepta la hipótesis nula  $H_0$

$p < \alpha \rightarrow$  se acepta la hipótesis alterna  $H_a$

Tabla N° 9

**Resumen de prueba de hipótesis**

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre LACTOBACILO_24H y LACTOBACILO_48H es igual a 0.	Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo de muestras relacionadas	1.000	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

Como se puede observar en la Tabla 8 el coeficiente de significancia de wilcoxon es 1.000 el cual se interpreta que la correlación es no significativa al nivel 0,05 (bilateral) tomando como criterio de aceptación correlaciones con significancia al  $p < 0.05$ , nos indica que Si la guayaba (*Psidium guajava*) tiene en su composición química taninos, fenoles, flavonoides, que le da esa propiedad de ser antibacteriana entonces no inhibiría el crecimiento de lactobacilo Spp.

**Decisión estadística:**

De esta manera la hipótesis general de la investigación es rechazada y se acepta la hipótesis nula.

## CAPITULO IV

### ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADO

Los resultados del presente estudio de investigación demostraron la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) sobre *Streptococo mutans* con un halo de inhibición de 15.14 mm. , *Lactobacilo ssp* de 13.66 mm a las 24 y 48 de incubación. Mostrando actividad antimicrobiana según halo de inhibición Resultados semejantes a **Samaniego V., Jacquett N. (2012)** donde demostró la actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos y el extracto acuoso de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) en bacterias gram positivas como gram negativas Los extractos alcohólicos y acuoso de hoja de *Psidium guajava* L. mostraron igual actividad antibacteriana. Así mismo **Pineda C. (2013)** probó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) contra *Salmonella* entérica *S. Typhimurium* en cobayos, tanto in vitro, como in vivo. Resultados diferentes a esta investigación debida a que en esta investigación se trabajó con cepas Gram positivas. En el estudio realizado por **Cano L. (2013)** evaluó el efecto del aceite esencial (AE) de hojas de la *Psidium guajava* L. sobre las contracciones espontáneas de íleo aislado de cobayo y su actividad antimicrobiana en bacterias patógenas que afectan el tracto gastrointestinal. El efecto antimicrobiano del AE de *P. guajava* L. en cepas de *Salmonella typhi* (ATCC 6539), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25932), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 9027) y *Listeria monocytogenes* (ATCC 244). Resultados diferentes a esta investigación donde demostramos la actividad antibacteriana sobre bacterias que no están presentes en enfermedades intestinales. Así mismo **Chero D. (2016)**. Determinó el efecto de antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Psidium*



guajava y *Medicago sativa* sobre *Streptococcus mutans* ATCC La mayor inhibición se encontró con el extracto alcohólico de *Psidium guajava* y fue a la concentración de 18 mg/ml obteniéndose un halo superior a los 28 mm. En el caso del extracto alcohólico de *Medicago sativa* la mayor inhibición se obtuvo a la concentración de 9 mg/ml pero dicha inhibición no fue significativa. Se presume que el efecto del extracto pudo deberse a los compuestos fenólicos presentes en la planta cuyos efectos bactericidas están bien descritos. Resultados similares a esta investigación donde también demostramos la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) con un halo de inhibición de 15.14mm. En la investigación de **Neira A., Ramírez M. (2005)**. Evaluaron la actividad antimicrobiana de varios extractos de *Psidium guajava* L y *Psidium guineense* Sw contra las bacterias *Streptococcus mutans* ATCC 31089, aislada de paciente y *Escherichia coli* 011-A8. Los resultados obtenidos indican alta actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos crudos y las fracciones acetato de etilo En conclusión, los extractos crudos de cáscara pintona seca de guayaba y hojas choba poseen actividad antimicrobiana. Resultados similares a esta investigación donde demostramos que si existe actividad antibacteriana sobre estreptococo mutan y lactobacilos ssp debido a los compuestos que presenta estas planteaas que le da la propiedad de ser antibacteriana.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

- Se determinó que el extracto alcohólico de la hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% de concentración presenta actividad antibacteriana sobre estreptococo mutans y lactobacilo spp.
- Se determinó que el extracto alcohólico de la hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% de concentración frente al estreptococo mutans tiene actividad antibacteriana frente al estreptococo mutan a una incubación de 37 °c por 24 horas presentando media de 15.14 mm de halo de inhibición.
- Al incubar hasta las 48 horas no se observó diferencias de halo de inhibición del extracto alcohólico de la hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% sobre estreptococo mutan presentando el mismo resultado.
- Se determinó que tiene actividad antibacteriana del extracto alcohólico de la guayaba (*Psidium guajava* L.) al 100% de concentración frente a lactobacilo spp a una incubación de 37 °c a 24 horas presentando una media de 13.66 de halo de inhibición.
- Al incubar hasta las 48 horas no se observó diferencias de halo de inhibición del extracto alcohólico de la guayaba (*Psidium guajava*) al 100% de concentración sobre Lactobacilo spp presentando el mismo resultado.
- Se determina la presencia de componentes presentes como taninos, fenoles, flavonoides que le da esta propiedad de tener actividad antibacteriana.

## CAPITULO VI

### RECOMENDACIONES

- Realizar estudios in vitro sobre la actividad antimicrobiana en otras bacterias presentes en la cavidad oral.
- Realizar estudios in vitro sobre la actividad antimicrobiana del extracto de la guayaba (*Psidium guajava*) en diferentes presentaciones como extracto acuoso, extracto puro de la hoja y extracto puro del fruto.
- Realizar estudios in vivo sobre la actividad antibacteriana de la hoja de guayaba (*Psidium guajava*) en diferentes concentraciones.
- Habiéndose demostrado la actividad antibacteriana de la hoja de guayaba (*Psidium guajava*) se puede proponer el consumo de este producto para prevenir la caries dental y otras enfermedades.
- Realizar otros estudios microbiológicos de diferentes productos naturales que tengan actividad antibacteriana e incluir estos productos dentro de la composición para el uso odontológico.

## Referencias Bibliográficas:

- 1.- Samaniego V., Jacquett N., Eficacia antimicrobiana del extracto de *Psidium guajava* L. Oral Research. Paraguay .2012. V 4 N° 2 pag. 113-134
- 2.- Pineda C. Efecto antimicrobiano de *Psidium guajava* L. contra *Salmonella typhimurium* en *Cavia porcellus* L. Medicina etnoveterinaria Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2013
- 3.- Cano L. Efectos antimicrobiano y antiespasmódico del aceite esencial y sus componentes mayoritarios presentes en las hojas de guayaba. 2013  
URI: <http://hdl.handle.net/123456789/2552>
- 4.- Chero D. Efecto Antibacteriano In Vitro Del Extracto Alcohólico De *Psidium guajava* y *Medicago sativa* SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Tesis. Pimentel – Perú 2016
- 5.- Rodriguez R., Lafourcade A., Pérez L. Hojas de *Psidium guajava* L Departamento de Farmacia. Universidad de Oriente. Cuba.2013
- 6.- Neira A., Ramírez M. Actividad antibacteriana de extractos dos especies de guayaba contra *streptococcus mutans* y *escherichia coli* Actual Biol 27 (Supl. 1): 27-30, 2005
- 7.- Echemendía C., Morón F. Tintura de hojas de *Psidium guajava* L. en pacientes con diarrea aguda simple Rev Cubana Plant Med 2014; 9(3)
- 8.- Martínez M., Molina N., Boucourt E. Evaluación de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava* L. (guayaba). Rev Cubana Plant Med, la Habana. 1997. v.2 n.1
- 9.- Botanical Online. Valor nutricional de la Guayaba. [En línea] [Citado el: 2014.] [http://www.botanicalonline.com/guayaba\\_psidium\\_guajava\\_valor\\_nutricional](http://www.botanicalonline.com/guayaba_psidium_guajava_valor_nutricional).
- 10.- Shao M, Wang Y, Huang XJ, Fan CL, Zhang QW, et al. Four new triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava* . J Asian Nat Prod Res 2012; 14: 348-354.
11. - Jaiarj P. Khoohaswan P., Wongkrajang Y., Peungvicha P., Suriyawong P., Saraya M., Ruangsomboon O. Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. J Ethnopharmacol 1999; 67 (2): 203-12.
- 12.- Ojewole J. Antiinflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract in rats and mice. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2006; 28 (7): 441-6.
- 13.- Dutta S., Das S. Study of the anti-inflammatory effect of the leaves of *Psidium guajava* Linn on experimental animal models. Pharmac Res 2010; 2: 313-317.

- 14.- Ojewole J. Hypoglycemic and hypotensive effects of *Psidium guajava* Linn (Myrtaceae) leaf aqueous extract. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2005; 27: 689-695.
- 15.- Betancourt J., Ramos A., Vizoso A., Martínez G., López B. Ausencia de actividad genotóxica del extracto fluido de *Psidium guajava* L. (guayaba) evaluada en un sistema de ensayo en *Aspergillus nidulans*. *Rev Cub Plant Med* 2000; 5(2):38-40.
- 16.- Martínez, M., López, M., Betancourt, J., Barceló, H., Montes, M., Regó, R. Estudio toxicológico preclínico de la *Psidium guajava* L. (guayaba). *Rev Cub Plant Med* 2001; 6(2): 56-61.
- 17.- Morón, F., Martínez, M., Morón, D. Disminución del tránsito intestinal en ratones por tintura de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Rev Cubana Plant Med* 1999; 4(2): 54-6. 14.
- 18.- Rattanachaikunsopon P. y Phumkhachorn P. Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajav*. *J Med Plant Res* 2010; 4 (5): 393-396.
- 19.- Rojas H., Acosta D. Potenciales antitumorales en extractos acuosos de plantas cubanas. III. *Rev Cubana Farm* 1980; 14(3): 325-328.
- 20.- Fernández K., Bussadori S., Márques M., Sumie N., Wadt Y, et al. Healing and cytotoxic effects of *Psidium guajava* (Myrtaceae) leaf extracts. *Braz J Oral Sci* 2010; 9: 449-454.
- 21.- Kim S., Cho S., Hyun S., Park H., Kim Y. Metabolic profiling and predicting the free radical scavenging activity of guava (*Psidium guajava* L.) leaves according to harvest time by 1H-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biosci Biotechnol Biochem* 2011; 75: 1090-1097.
- 22.- Adeyemi O., Akanji M. Biochemical changes in the kidney and liver of rats following administration of ethanolic extract of *Psidium guajava* leaves. *Hum Exp Toxicol* 2011 30(9): 1266-1274.
23. - Lozoya X., Reyes M., Chávez, M. Martínez, G., Soto G., Doubova S. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. *J Ethnopharmacol* 2002; 83(1-2): 19-24.
- 24.- En Buena Salud Magazine. 10 Razones para comer más guayaba. [En línea] 2012. [Citado el: 2014.].  
<http://www.enbuenasalud.org/2013/05/10-razones-para-comer-mas-guayaba/>.

- 25.- Vida Natural. Propiedades y Frutas-Información sobre la Guayaba. [En línea] [Citado el: 2014.] <http://propiedadesfrutas.com/informacion-sobre-la-guayaba.html>.
- 26.- Hamada S., Slade, H. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiological reviews*. 1980 Jun;44(2):331–84.
- 27.- Linossier, A., Valenzuela, C. Colonización de la cavidad oral por *Streptococcus* grupo mutans, según edad, evaluado en saliva por un método semi-cuantitativo. *Rev Chil Infect*. 2011; 28(3):230–7.
28. Linke H. New Medium for the Isolation of *Streptococcus mutans* and Its Differentiation from Other Oral Streptococci. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 1977; 5(6):604–9.
- 29.- Liébana J., Pontón J., Benito L. Bacilos grampositivos anaerobios facultativos de interés oral. En: Liébana J. *Microbiología oral*. 2 ed. España: McGraw- Hill Interamericana; 2002. p. 345-54.
- 30.- Matsumoto M., Tsuji M., Sasaki H., Fujita K., Nomura R., Nakano, K., Shintani, S., Ooshima, T. Cariogenicity of the probiotic bacterium *Lactobacillus salivarius* in rats. *Caries Res*. 2005; 39:479-83.
- 31.- Kneist S., Schmidt F., Callaway A., Willershausen B., Rupf S., Wicht M., Thiede B. Diversity of *Lactobacillus* species in deep carious lesions of primary molars. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2010; 11:181-6.
- 32.- Real Academia Española, *Diccionario de la lengua española*. 23ª. ed. Madrid: Espasa, 2014.
- 33.- Méndez L., López R., Hernández F. *Actualidades en Micología Médica*. Eds. Editorial de la Facultad de Medicina, UNAM, 2010.
- 34.- Bautista R. Efecto antibacteriano de la miel de abeja en diferentes concentraciones sobre el estreptococo mutans, tesis. Lima- Perú usmp. 2011

# **ANEXOS**



**ANEXO N° 1**

**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS**

Extracto alcohólico de hoja de guayaba		Medición de los halos de inhibición en mm		
		Tiempo 24h	Tiempo 48h	
<b>Numero de repeticiones de socavado</b>	1 Socavado			
	2 socavado			
	3 socavado			
	4			
	5			
	6			
	.7			
	.8			
	.9			
	10			
	11			
	12			

Fuente: Rosa Elena Bautista Manrique (34)

**Los resultados obtenidos se medirán el halo de inhibición de cada socavado con una regla milimetrada donde se anotaran estas medidas en cada cuadro de acuerdo al tiempo de incubación.**



Anexo N°2

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

FOTO N°1



**FOTO N° 2**

**LAVADO DE LAS HOJAS**



**FOTO N° 3**

**DESECACION DE LAS HOJAS A LA ESTUFA**



**FOTO N° 4**

**TRITURACION DE LA HOJAS SECAS CON MARTERO Y LA MEDICION DEL ALCOHOL ETILICO**



**FOTO N° 5**



## FOTO N° 6

### PROCEDIMIENTO DEL VACIADO DEL ALCOHOL ETILICO AL FRASCO AMBAR



**FOTO N° 7**

**AGITANDO EL PREPARADO ALCOHOLICO**





## FOTO N° 8

### FILTRACION DEL PREPARADO



**FOTO N° 9**

**PREPARACION DEL MEDIO PARA LA ACTIVACION DE LA CEPA**



**FOTO N° 10**

**PESANDO EL MEDIO DE CULTIVO**



## VACIANDO EL MEDIO DE CULTIVO AL MATRAZ



## AGREGANDO AGUA DESTILADO PARA SU PREPARACION



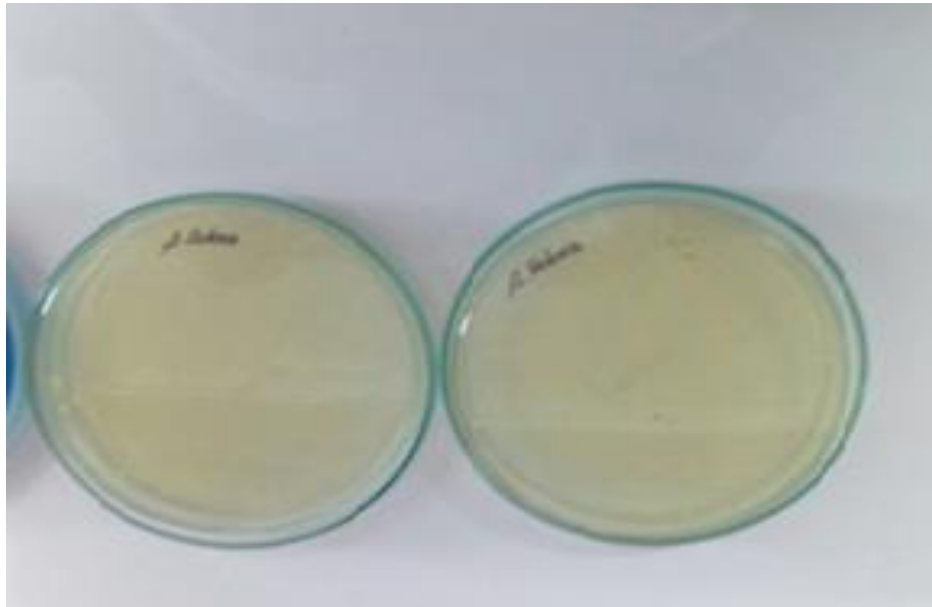


## AGITANDO EL MEDIO PARA SU EBULLICION Y EL VACIAOD EN PLACA



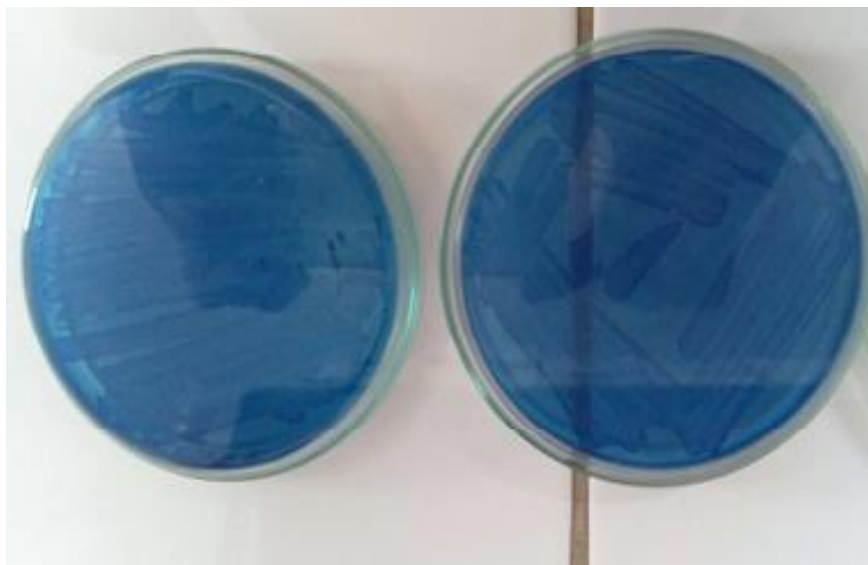
**FOTO N° 11**

**ACTIVACION DE LA CEPA DE LACTOBACILO**



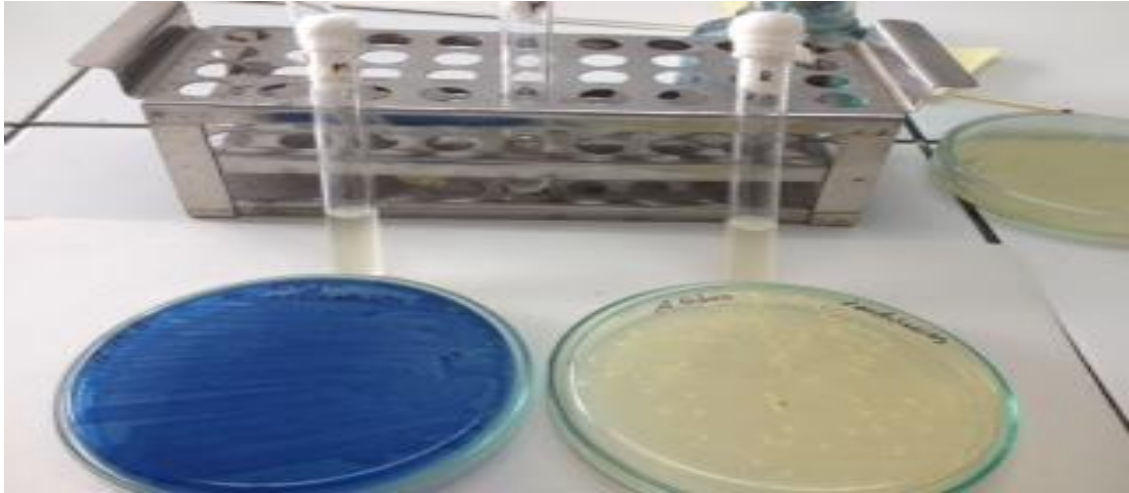
**FOTO N° 12**

**ACTIVACION DE CEPA DE ESTREPTOCOCO MUTANS**



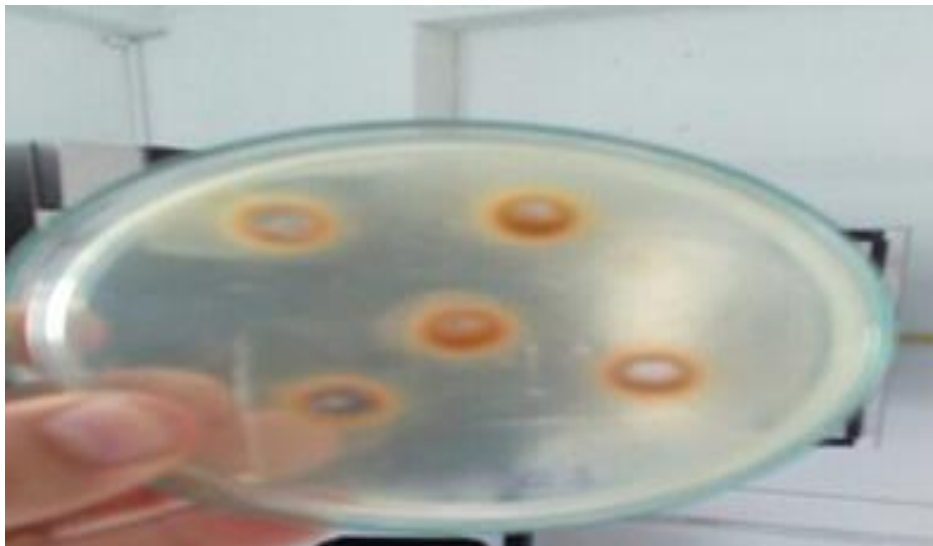
**FOTO N°13**

**CEPA DE MUTANS Y LACTOBACILO EN AGAR Y CLADO TRIPTICASA DE SOJA PARA ANTIBIOGRAMA EN LA ESCALA DE TURBIDEZ**



**FOTO N° 14**

**PILOTO PARA OBSERVAR SU ACTIVIDAD**



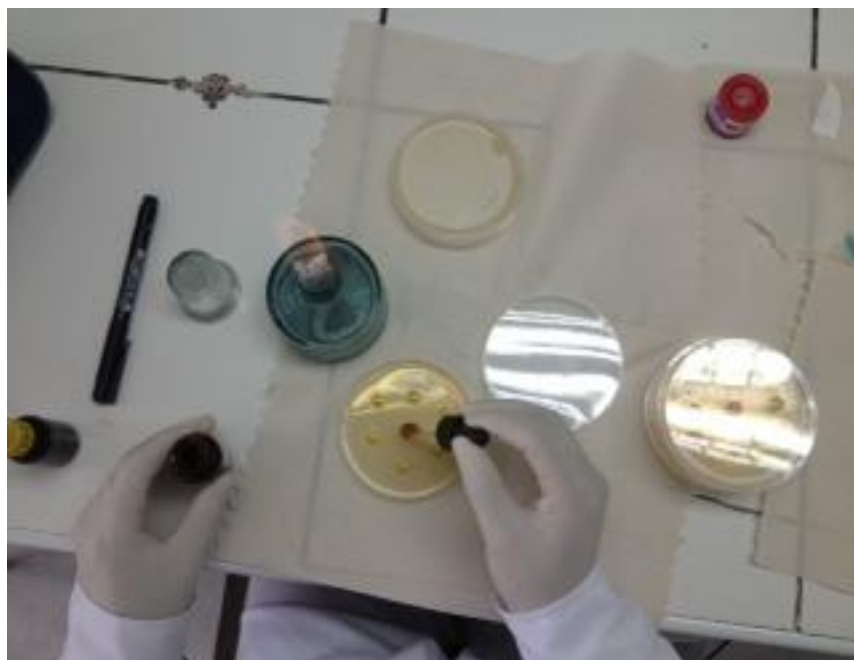
**FOTO N° 15**

**SIEMBRA DE CEPAS Y LA PREPARACION DE SOCAVADO  
EN EL MEDIO MULLER HINTON**



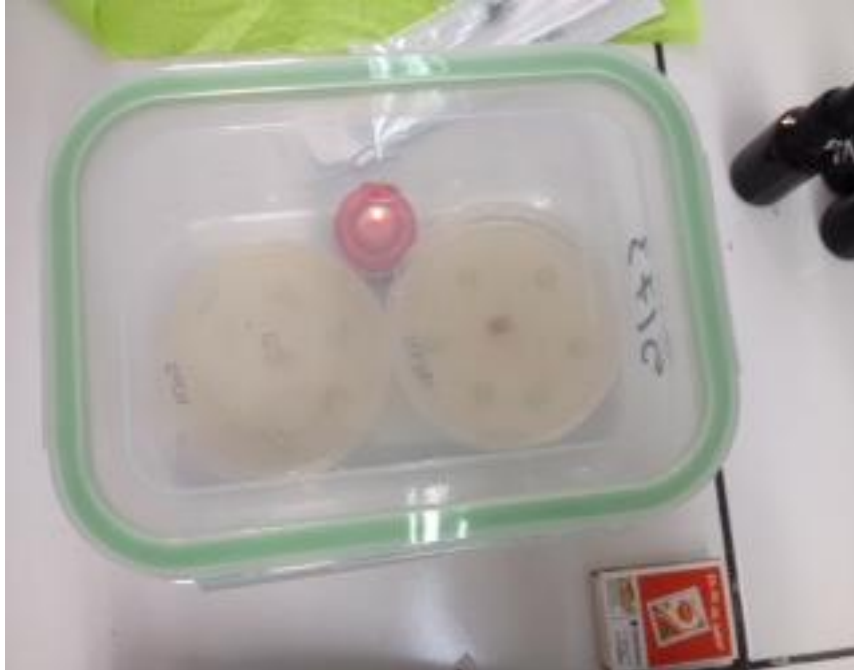
**FOTO N° 16**

**COLOCACION DEL EXTRACTO EN EL SOCAVADO**



**FOTO N° 17**

**LLEVANDO A LA CONDICIONES DE ANAEROBIOSIS**



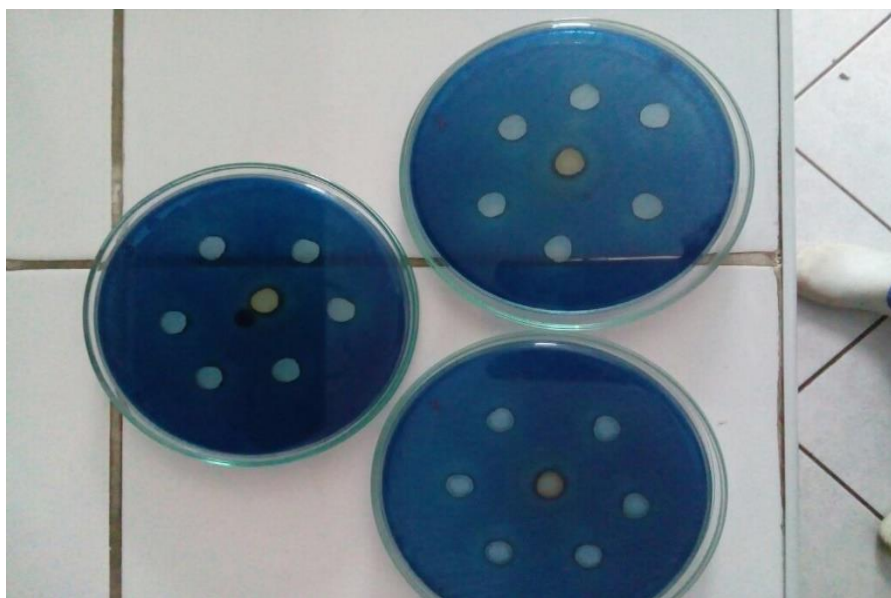
**FOTO N° 18**

**INCUBANDO A 37°C 24 Y 48 HORAS PARA SU CRECIMIENTO**



**FOTO N° 19**

**SOCAVADO EN PLACA : AGRA MITIS SALIVARIUS**



**FOTO N° 20**

**SOCAVADO EN PLACA: AGAR ROGOSA**

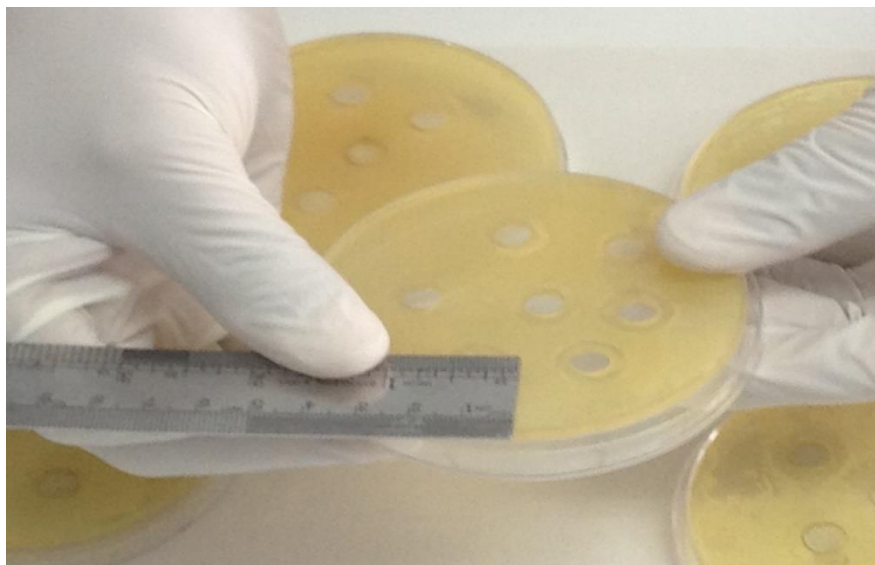




**FOTO N° 21**  
**RESULTADO DEPUES DE LAS 24 HORAS**



**FOTO N° 22**  
**MEDICION DE LOS RESULTADOS**



### ANEXO 3

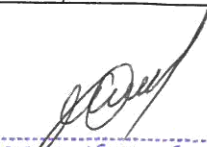
#### MATRIZ DE CONSISTENCIA

#### Actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hoja de guayaba (Psidium guajava L.) sobre Lactobacilos spp y Estreptococo Mutans

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	ESCALA	INDICADOR	VALOR
<p><b>PROBLEMA PRINCIPAL</b> ¿Cuál será la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba ( Psidium guajava L.) sobre Lactobacilos spp y Estreptococo Mutans.</p> <p><b>PROBLEMA ESPECÍFICO</b> ¿Cuál será la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hoja de guayaba ( Psidium guajava L.) sobre Lactobacilo? ¿Cuál será la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hoja de guayaba ( Psidium guajava L.) sobre Estreptococo Mutans?</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b> Determinar la actividad antibacteriana del extracto de hojas guayaba ( Psidium guajava L.) sobre Lactobacilos y Estreptococo Mutans</p> <p><b>OBJETIVO ESPECIFICOS</b> - Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba ( Psidium guajava L.) sobre Lactobacilo a las 24 y 48 horas de incubación. - Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba ( Psidium guajava L.) sobre Estreptococo Mutans a las 24 y 48 horas de incubación. - Comparar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba ( Psidium guajava L.) Sobre Lactobacilo y Estreptococo Mutans a las 24 y 48 horas de incubacion - Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de hojas guayaba ( Psidium guajava L.) en diferentes concentraciones sobre el Lactobacilo, Estreptococo Mutans y Echericha coli a las 24 y 48 de incubacion.</p>	<p>Si la guayaba (Psidium guajava) contienen taninos, fenoles, flavonoides, que le da esa propiedad de ser antibacteriana entonces inhibiría el crecimiento de lactobacilo Spp y Estreptococo Mutans</p>	<p><b>Variables Independientes</b> Extracto alcohólico de hoja de Guayaba (Psidium guajava).</p> <p><b>Variable Dependiente:</b> Actividad antibacteriana sobre el Lactobacilo spp y Streptococcus Mutans</p>	<p>Ordinal</p> <p>Razón</p>	<p>Halo de Inhibición</p>	<p>Bacteriostático Halo de 15 – 25 mm Bactericida Halo &gt; de 25 mm</p>



Extracto de hoja de guayaba al 100%		Medición de los halos de inhibición en mm.	
		24h Incubación	48h Incubación
Numero de repeticiones de socavados #20	1socavado		
	2socavado		
	3socavado		
	4socavado		
	5		
	6		
	.		
	.		
	.		

  
 Dr. CD Paul Mendoza Murillo  
 Esp. Salud Pública Estomatológica  
 COP. 7788 RNE 362

## INFORME DE OPINIÓN DE EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

### I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y nombres del informante (Experto): Mendoza Murillo Paúl
- 1.2. Grado Académico: Doctor
- 1.3 Profesión: Cirujano Dentista
- 1.4. Institución donde labora: Universidad Nacional Federico Villarreal
- 1.5. Cargo que desempeña: Director de Escuela Profesional

### II. VALIDACIÓN INDICADORES DE EVALUACIÓN DEL INSTRUMENTO CRITERIOS

Sobre los ítems del instrumento

Marca en el espacio en blanco para cada pregunta con un check si no le encuentra ninguna objeción o con un X si tienen.

N°	Pregunta		
1. CLARIDAD	¿La variable está formulada con lenguaje apropiado que facilita su comprensión?	/	
2. OBJETIVIDAD	¿Están expresados en conductas observables, medibles	/	
3. CONSISTENCIA	¿La redacción es entendible o coherente con el propósito de estudio??	/	
4. COHERENCIA	¿Existe relación del contenido con los indicadores de la variable?	/	
5. PERTINENCIA	¿Las categorías de respuestas y sus valores son apropiados?	/	
6. SUFICIENCIA	¿Son suficientes la cantidad y calidad de ítems presentados en el instrumento?	/	

Observaciones o sugerencias.....

.....

.....

  
Dr. CD Paúl Mendoza Murillo  
 Esp. Salud Pública Estomatológica  
 COP. 7788 RNE. 362

Señor(a)..... Paúl Mendoza Murillo .....

Presente.-

Tengo el agrado de dirigirme a Ud., para saludarlo(a) cordialmente y a la vez manifestarle que, conocedores de su trayectoria académica y profesional, molestamos su atención al elegirlo como JUEZ EXPERTO para revisar el contenido del instrumento que pretendemos utilizar en la Tesis para optar el título de cirujano dentista, por la Universidad Peruana Los Andes. El instrumento tiene como objetivo medir la variable. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJA DE GUAYABA, por lo que, con la finalidad de determinar la validez de su contenido de acuerdo a su amplia experiencia y conocimientos, solicitamos Marca en el espacio en blanco para cada pregunta con un check si no le encuentra ninguna objeción o con un X si tienen que modificarse en este aspecto la pregunta de acuerdo a su amplia experiencia y conocimientos. La modificación que debe realizarse podría ser detallada al final en el espacio de observaciones y sugerencia.

Se adjunta el instrumento y la matriz de operacionalización de la variable considerando tipo, indicadores y escala de medición. Agradecemos anticipadamente su colaboración y estamos seguros que su opinión y criterio de experto servirán para los fines propuestos.

Atentamente,

  
-----  
Dr. CD Paúl Mendoza Murillo  
Esp. Salud Pública Estomatológica  
COP. 7788 RNE. 362


Señor(a) Sebe Augusto Guardia Huaman

Presente.-

Tengo el agrado de dirigirme a Ud., para saludarlo(a) cordialmente y a la vez manifestarle que, conocedores de su trayectoria académica y profesional, molestamos su atención al elegirlo como JUEZ EXPERTO para revisar el contenido del instrumento que pretendemos utilizar en la Tesis para optar el título de cirujano dentista, por la Universidad Peruana Los Andes. El instrumento tiene como objetivo medir la variable. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJA DE GUAYABA, por lo que, con la finalidad de determinar la validez de su contenido de acuerdo a su amplia experiencia y conocimientos, solicitamos Marca en el espacio en blanco para cada pregunta con un check si no le encuentra ninguna objeción o con un X si tienen que modificarse en este aspecto la pregunta de acuerdo a su amplia experiencia y conocimientos. La modificación que debe realizarse podría ser detallada al final en el espacio de observaciones y sugerencia.

Se adjunta el instrumento y la matriz de operacionalización de la variable considerando tipo, indicadores y escala de medición. Agradecemos anticipadamente su colaboración y estamos seguros que su opinión y criterio de experto servirán para los fines propuestos.

Atentamente,

  
D.R. CD. Sebe A. Guardia Huaman

## INFORME DE OPINIÓN DE EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

### I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y nombres del informante (Experto): Guardia Huamani Seber A.  
 1.2. Grado Académico: Doctor en Odontología  
 1.3 Profesión: Orujano Dentista  
 1.4. Institución donde labora: Universidad Nacional Federico Villarreal  
 1.5. Cargo que desempeña: Docente del Curso de Microbiología

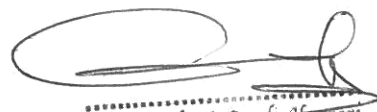
### II. VALIDACIÓN INDICADORES DE EVALUACIÓN DEL INSTRUMENTO CRITERIOS

Sobre los ítems del instrumento


Marca en el espacio en blanco para cada pregunta con un check si no le encuentra ninguna objeción o con un X si tienen.

N°	Pregunta		
1. CLARIDAD	¿La variable está formulada con lenguaje apropiado que facilita su comprensión?	✓	
2. OBJETIVIDAD	¿Están expresados en conductas observables, medibles	✓	
3. CONSISTENCIA	¿La redacción es entendible o coherente con el propósito de estudio??	✓	
4. COHERENCIA	¿Existe relación del contenido con los indicadores de la variable?	✓	
5. PERTINENCIA	¿Las categorías de respuestas y sus valores son apropiados?	✓	
6. SUFICIENCIA	¿Son suficientes la cantidad y calidad de ítems presentados en el instrumento?	✓	

Observaciones o sugerencias.....  
 .....  
 .....

  
 MR. M. Seber A. Guardia Huamani

Extracto de hoja de guayaba al 100%		Medición de los halos de inhibición en mm.	
		24h Incubación	48h Incubación
<b>Numero de repeticiones de socavados</b> #20	1socavado		
	2socavado		
	3socavado		
	4socavado		
	5		
	6		
	.		
	.		
	.		



DR. C.D. Seber A. Guardia Huamani



Señor(a) MERCEDES DONAYNE FERVAQUEZ.....

Presente.-

Tengo el agrado de dirigirme a Ud., para saludarlo(a) cordialmente y a la vez manifestarle que, conocedores de su trayectoria académica y profesional, molestamos su atención al elegirlo como JUEZ EXPERTO para revisar el contenido del instrumento que pretendemos utilizar en la Tesis para optar el título de cirujano dentista, por la Universidad Peruana Los Andes. El instrumento tiene como objetivo medir la variable. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJA DE GUAYABA, por lo que, con la finalidad de determinar la validez de su contenido de acuerdo a su amplia experiencia y conocimientos, solicitamos Marca en el espacio en blanco para cada pregunta con un check si no le encuentra ninguna objeción o con un X si tienen que modificarse en este aspecto la pregunta de acuerdo a su amplia experiencia y conocimientos. La modificación que debe realizarse podría ser detallada al final en el espacio de observaciones y sugerencia.

Se adjunta el instrumento y la matriz de operacionalización de la variable considerando tipo, indicadores y escala de medición. Agradecemos anticipadamente su colaboración y estamos seguros que su opinión y criterio de experto servirán para los fines propuestos.

Atentamente,

Facultad de Odontología  
UNALU



## INFORME DE OPINIÓN DE EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

### I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y nombres del informante (Experto): .....
- 1.2. Grado Académico: Doctor en Odontología .....
- 1.3 Profesión: Cirujano Dentista .....
- 1.4. Institución donde labora: Universidad Nacional Federico Villarreal .....
- 1.5. Cargo que desempeña: Docente del Curso de farmacología .....

### II. VALIDACIÓN INDICADORES DE EVALUACIÓN DEL INSTRUMENTO CRITERIOS

Sobre los ítems del instrumento

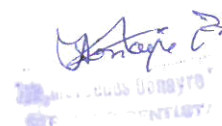
Marca en el espacio en blanco para cada pregunta con un check si no le encuentra ninguna objeción o con un X si tienen.

N°	Pregunta		
1. CLARIDAD	¿La variable está formulada con lenguaje apropiado que facilita su comprensión?	✓	
2. OBJETIVIDAD	¿Están expresados en conductas observables, medibles	✓	
3. CONSISTENCIA	¿La redacción es entendible o coherente con el propósito de estudio??	✓	
4. COHERENCIA	¿Existe relación del contenido con los indicadores de la variable?	✓	
5. PERTINENCIA	¿Las categorías de respuestas y sus valores son apropiados?	✓	
6. SUFICIENCIA	¿Son suficientes la cantidad y calidad de ítems presentados en el instrumento?	✓	

Observaciones o sugerencias.....

.....

.....





Extracto de hoja de guayaba al 100%		Medición de los halos de inhibición en mm.	
		24h Incubación	48h Incubación
Numero de repeticiones de socavados #20	1socavado		
	2socavado		
	3socavado		
	4socavado		
	5		
	6		
	.		
	.		
	.		

*Mercedes Donayre*  
**Mercedes Donayre**  
**CIRUJANO DENTISTA**